

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA



FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICA

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ACUOSO *Solanum tuberosum* (papa fermentada) Y ACEITE ESENCIAL *Thymus vulgaris* (tomillo), FRENTE A CEPA *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO *in vitro*”

Tesis para optar al Título Profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico

TESISTAS:

**BERTHA YULI ARRATEA ORTEGA
YISSE MARIBEL MAMANI UCHASARA**

ASESORA:

Dra. Q.F. MARITZA GALINE RUÍZ SANCHEZ

2017

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía y por hacer posible la culminación de mis estudios y logro de mis metas profesionales.

A mis queridos padres, Felipe y Agripina, por su amor, comprensión y apoyo incondicional a seguir adelante.

A todos mis hermanos y sobrinos, por su confianza y aliento permanente.

A José Luis y familia, por su apoyo al compartir momentos de calma y estrés, celebrar mis logros y darme ánimo en situaciones difíciles.

Yisse Maribel Mamani Uchasara

A Dios, por darme la oportunidad de vivir y tener la mejor familia del mundo.

A mi madre Margarita, que con sacrificio logró alcanzar sus sueños y particularmente, verme realizada.

A mis hermanas y sobrinas, por sus consejos y apoyo incondicional y fuerza para conseguir uno de mis sueños: culminar mi carrera universitaria.

A mi Alma Mater, mi Facultad de Farmacia y Bioquímica que me enseñó a caminar en la vida profesional.

Bertha Yuli Arratea Ortega

AGRADECIMIENTO

A nuestra asesora de tesis, Dra. Q.F. Maritza Ruíz, por su incondicional ayuda, tiempo, paciencia y dedicación en el desarrollo del presente trabajo de investigación.

Al profesor Q.F. Pablo Bonilla y su asistente Gustavo Fernández, por su apoyo y tiempo desde el ambiente de Farmacología de la Universidad Mayor de San Marcos.

A la profesora Bertha Rojas, por su apoyo y tiempo desde el ambiente de microbiología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

A la señorita Ángela Aguirre y el Sr. Walter Siri, por su apoyo para la elaboración del presente estudio, desde los ambientes del laboratorio de especialidad de microbiología.

Yisse Mamani y Yuli Arratea.

ÍNDICE

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Índice de tablas	
Índice de figuras	
Índice de anexos	
Resumen	
Abstract	
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
1.1.Descripción de la realidad problemática	3
1.2.Identificación y formulación del problema	6
1.2.1. Problema general	6
1.2.2. Problemas específicos.....	6
1.3. Objetivos de la investigación.....	7
1.3.1. Objetivo general	7
1.3.2. Objetivos específicos.....	7
1.4. Justificación	8
1.5. Limitaciones de la investigación.....	8
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	9
2.1. Antecedentes de la investigación.....	9
2.1.1. Antecedentes nacionales.....	9
2.1.2. Antecedentes internacionales	13
2.2. Bases legales	17
2.2.1. Normas nacionales:	17

2.2.2. Normas internacionales:	19
2.3. Bases teóricas	21
2.3.1. <i>Solanum Tuberosum</i>	21
2.3.1.1. Taxonomía, hábitat y cultivos	25
2.3.1.2. Morfología	26
2.3.1.3. Composición química	26
2.3.1.4 Papa fermentada	27
2.3.2 <i>Thymus vulgaris</i>	36
2.3.2.1. Taxonomía, hábitat y cultivo	37
2.3.2.2. Morfología	39
2.3.2.3. Composición química	40
2.3.2.4 Obtención de aceites esenciales	40
2.3.2.5 Aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> :.....	42
2.3.3 Bacterias	44
2.3.3.1. Clasificación de bacterias	45
2.3.4. <i>Staphylococcus</i>	48
2.3.4.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	49
2.3.4.2. Enfermedades causadas por <i>Staphylococcus aureus</i>	51
2.3.5 Cefalexina	53
2.3.5.1 Mecanismo de acción	53
2.3.5.2 Farmacocinética	53
2.3.5.3 Contraindicaciones	54
2.4. Formulación de hipótesis	55
2.4.1. Hipótesis general	55
2.4.2. Hipótesis específicas	55

2.5. Operacionalización de variables e indicadores	56
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA.....	63
3.1. Tipo de investigación	63
3.2. Diseño de la investigación	64
3.3. Población y muestra de la investigación	64
3.3.1. Población.....	64
3.3.2. Muestra	64
3.3.3. Muestreo	64
3.3.4. Lugar de la investigación	65
3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	65
3.4.1. Técnica de recolección de datos 1	65
3.4.2. Descripción de instrumento1	65
3.4.3. Validación de instrumento.....	70
3.4.3. Técnica de recolección de datos 2.....	75
3.4.4. Descripción de instrumentos 2.....	75
3.4.5. Técnica de recolección de datos 3.....	76
3.4.6. Descripción del instrumento3.....	77
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	79
4.1. Procesamiento de datos. Resultados.....	79
4.1.1. Primera etapa	79
4.1.2. Segunda etapa	81
4.1.3. Tercera etapa.	83
4.2. Discusión de resultados	85
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	85
5.1. Conclusiones	85

5.2. Recomendaciones	85
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
ANEXOS.....	106

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01: Especies de <i>Solanum</i> cultivadas en el Perú	22
Tabla N° 02: Variedad de papas nativas en el Perú	24
Tabla N° 03: Taxonomía <i>Solanum tuberosum</i>	25
Tabla N° 04: Composición de <i>Solanum tuberosum</i>	27
Tabla N°05: Composición de la papa Chuño Negro del Perú	35
Tabla N° 06: Taxonomía del <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo).....	38
Tabla N° 07: Clasificación de bacterias	47
Tabla N° 08: Tipos de <i>Staphylococcus</i>	49
Tabla N° 09: Taxonomía de <i>Staphylococcus aureus</i>	50
Tabla N° 10: Matriz de Operacionalización de variables e indicadores	56
Tabla N° 11: Concentraciones del Tocosh	66
Tabla N° 12: Concentraciones del Chuño Blanco.....	67
Tabla N° 13: Concentraciones del Chuño Negro.....	68
Tabla N° 14: Concentraciones del aceite esencial <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo)	69
Tabla N° 15: Valor de CIM o Halo de inhibición del CLSI para indicar sensibilidad ...	71
Tabla N° 16: Escala de Duraffourd para indicar sensibilidad antimicrobiana	71
Tabla N ^a 17: Resultado microbiológico del estudio piloto del <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada)	79
Tabla N° 18: Resultado microbiológico del estudio piloto del aceite <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo).....	80
Tabla N° 19: Resultados de la marcha fitoquímica del extracto acuoso <i>Solanum</i> <i>tuberosum</i> (papa fermentada)	81

Tabla N° 20: Resultados de la marcha fitoquímica del aceite esencial <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo)	82
Tabla N° 21: Resultado microbiológico del grupo control	83
Tabla N° 22: Resultado microbiológico del extracto acuoso al 5%	84
Tabla N° 23: Resultado microbiológico del aceite esencial al 90%.....	84

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01: Relación de parentesco evolutivo de las papas cultivadas	23
Figura N° 02: Muestra de chuño blanco (A) y chuño negro (B) provenientes de Ullacachi, Ilave, Puno/ Foto: C. Fonseca	29
Figura N° 03: Técnicas de transformación de la papa	31
Figura N° 04: Procesos de elaboración del chuño negro (A y B) y blanco (C)	34
Figura N° 05: <i>Thymus vulgaris</i> "Tomillo"	37
Figura N° 06: Inflorescencia del Tomillo	39
Figura N° 07: Extracción de aceites esenciales.....	42
Figura N° 09: Morfología macroscópica <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figura N° 08: Morfología microscópica <i>Staphylococcus aureus</i>	51

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO 01: Matriz de consistencia	107
ANEXO 02: Certificado <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo)	109
ANEXO 03: Fotos tomadas de la realización de la Marcha Fitoquímica	110
ANEXO 04: Fotos de los resultados de la Marcha Fitoquímica	112
ANEXO 05: Fotos de la preparación de las muestras.	116
ANEXO 06: Fotos del sembrado, aplicación de discos y resultado.	119
ANEXO 07: Ficha de la cepa <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.....	120

RESUMEN

El presente estudio ha sido realizado con el objeto de determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo), frente a cepa *Staphylococcus aureus*. Método experimental *in vitro*. Se efectuó en tres etapas: la primera etapa, que consistió en un estudio piloto, la segunda etapa, correspondió a la realización de la marcha fitoquímica para ambas muestras y, la tercera, al sembrado con cepa liofilizada de *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213TM en agar Müller-Hinton, utilizando la técnica de difusión en agar con discos impregnados. Se trabajaron 5 placas con discos de cefalexina 30µg y del extracto acuoso al 5 por ciento de *Solanum tuberosum* (chuño negro), 5 placas con aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) al 90 por ciento. Los resultados de la marcha fitoquímica del extracto acuoso del *Solanum tuberosum* (chuño negro) presenta aminoácidos, alcaloides y flavonoides (antocianinas). En el aceite esencial del *Thymus vulgaris* se presentan terpenoides, taninos y compuestos fenólicos. Los resultados del halo de inhibición del extracto acuoso del *Solanum tuberosum* (chuño negro) $20,8 \pm 0.3\text{mm}$, *Thymus vulgaris* (tomillo) $15.7 \pm 0.3\text{mm}$ y cefalexina $31.2 \pm 0.3\text{mm}$. Se concluye que frente a cepa *Staphylococcus aureus* el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (chuño negro) tiene actividad antibacteriana considerada como sensible según CLSI y sumamente sensible para Duraffourd, y en el caso del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo), actividad antibacteriana intermedia, según CSLI, y muy sensible para Duraffourd.

Palabras clave: Aceite esencial, actividad antibacteriana, extracto acuoso, papa fermentada, *Solanum tuberosum*, *Thymus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*.

ABSTRACT

The present study has been carried out in order to determine the *in vitro* antibacterial activity of the aqueous extract of *Solanum tuberosum* (fermented potato) and of the essential oil *Thymus vulgaris* (thyme), against the *Staphylococcus aureus* strain. In vitro experimental method. It was carried out in three stages: the first stage, which consisted of a pilot study, the second stage, corresponded to the performance of the phytochemical march for both samples and, the third, to the sowing with lyophilized strain of *Staphylococcus aureus* ATCC® 29213TM in agar Müller-Hinton, using the agar diffusion technique with impregnated discs. Five plates with cephalixin discs 30µg and 5 por ciento aqueous extract of *Solanum tuberosum* (black chuño), 5 plates with essential oil of *Thymus vulgaris* (thyme) 90 por ciento were worked. The results of the phytochemical march of the aqueous extract of *Solanum tuberosum* (black chuño) present amino acids, alkaloids and flavonoids (anthocyanins). In the essential oil of *Thymus vulgaris* terpenoids, tannins and phenolic compounds occur. The results of the inhibition halo of the aqueous extract of *Solanum tuberosum* (black chuño) $20.8 \pm 0.3\text{mm}$, *Thymus vulgaris* (thyme) $15.7 \pm 0.3\text{mm}$ and cephalixin $31.2 \pm 0.3\text{mm}$. It is concluded that against a *Staphylococcus aureus* strain the aqueous extract of *Solanum tuberosum* (black chuño) has antibacterial activity considered as sensitive according to CLSI and extremely sensitive for Duraffourd, and in the case of the essential oil *Thymus vulgaris* (thyme), intermediate antibacterial activity, according to CSLI, and very sensitive for Duraffourd.

Keywords: Essential oil, antibacterial activity, aqueous extract, fermented potato, *Solanum tuberosum*, *Thymus vulgaris*, *Staphylococcus aureus*.

INTRODUCCIÓN

Staphylococcus aureus es una bacteria que constituye causa común de infecciones representando un riesgo mortal para la humanidad. Esta bacteria forma parte de la flora natural del ser humano y posee una gran capacidad adaptativa. En la actualidad alguna cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* presentan resistencia a la penicilina. Generalmente los fármacos utilizados para combatir estas infecciones presentan efectos secundarios, por lo que se pretende buscar otras formas de tratamiento como una buena opción en la actualidad.

Tomando como base esta problemática, el propósito de este estudio fue determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepa *Staphylococcus aureus* con la finalidad de incorporar la utilización de plantas aplicadas en la medicina tradicional en el Perú, como es la papa procesada de forma ancestral y del aceite esencial del tomillo, verificando el efecto farmacológico esperado y que se use como medicina alternativa.

La presente tesis que expone la estructura, marco teórico, proceso metodológico, conclusiones y recomendaciones de la investigación realizada, consta de cinco capítulos y sus correspondientes anexos.

El capítulo I presenta el planteamiento del problema, describiendo e identificando la realidad problemática, objetivos, justificación del estudio y limitaciones de la investigación.

El capítulo II desarrolla el marco teórico, detallando los antecedentes nacionales e internacionales, así como las bases legales en que se sustentó el presente trabajo.

El capítulo III explica la metodología usada, el tipo de investigación, la forma de recolección de datos.

El capítulo IV corresponde a la presentación y análisis de los resultados.

El capítulo V corresponde a las conclusiones a las cuales se arribó y recomendaciones para futuros estudios.

Finalmente, se presentan las referencias bibliográficas y los anexos.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

Las enfermedades infecciosas, en la actualidad, son un problema de salud mundial, causadas por cepas patógenas bacterianas resistentes (1); debido al uso desmedido de antimicrobianos, se genera un alza de la resistencia bacteriana (2), siendo este un fenómeno mundial por el uso irracional de los antibióticos, entre otras causas, declarado como una situación sumamente dramática por la OMS, la Organización Panamericana de la Salud y los Ministerios de Salud de distintas naciones. Las cifras señalan que todos los años aproximadamente 700 000 personas mueren por infecciones causadas por bacterias resistentes a los medicamentos disponibles. En el 2016 se produjo más de 200 000 muertes por año en neonatos debido a la resistencia a los antimicrobianos. Entre las bacterias implicadas en este fenómeno creciente, están las Gram positivas: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus sp* coagulasa negativa, *Enterococcus sp*, etc. y las Gram negativas: *Enterobacterias* y bacterias no fermentadoras (3).

La creciente tasa de resistencia de *Staphylococcus aureus* a diversos antibióticos ha producido una amplia búsqueda de antibióticos de alta efectividad. Esta bacteria coloniza la piel y mucosas de personas sanas pudiendo producir enfermedad por toxinas o superantígenos, invadiendo órganos o tejidos, originando necrosis tisular, con capacidad de originar

metástasis por vía hematológica y bacteriemia persistente pudiendo estar inactivo para reactivarse después de meses o años (4).

Siendo causante de infecciones con mayor frecuencia en todas las edades, la tasa de infección en niños, es aproximadamente de 30 casos por cada 100.000 habitantes (5).

El tratamiento óptimo se realiza con dosis alta de un antibiótico o asociaciones de este, como cefalosporinas (especialmente las de primera generación) y los carbapenems. En situaciones clínicas con una elevada tasa de mortalidad se realiza la elección de antibióticos o asociaciones de antibióticos de demostrada actividad *in vitro* (4).

Estudios en el país indican que un 40 y 60 por ciento de la población se auto médica. A nivel mundial más de 50 por ciento de todos los medicamentos se recetan o dispensan de forma inadecuada y el 50 por ciento de los pacientes lo toman de manera incorrecta. Convirtiéndose en una problemática mundial ya que puede ocasionar tanto riesgos en la salud y en la vida (6).

En los países en vías de desarrollo un 90 por ciento de la población usa medicina tradicional (7). En el año 2002 la OMS, lanzó una estrategia sobre medicina tradicional alentando la realización de investigaciones y así facilitar a los países la exploración de nuevas alternativas utilizadas en la medicina tradicional con la finalidad de mejorar la salud y bienestar de la población, reduciendo al mínimo los riesgos de utilización de remedios de eficacia no demostrada o de una utilización inadecuada, estrategia que debe ser aplicada en nuestro país debido a su extensa biodiversidad (8).

En el año 2007, el Colegio Médico del Perú realizó una Cumbre internacional, conocida como La Declaración de Lima, la cual reconoce la importancia de la

medicina tradicional y recomienda su armonización y estructuración con los sistemas de salud oficiales en cada país (7).

Siendo un problema de salud pública es necesario generar nuevas alternativas que den solución a la resistencia bacteriana.

La medicina tradicional ayuda en la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas; como por ejemplo el *Solanum tuberosum* (papa fermentada) que son tradicionales y hoy en día existen estudios que demuestran importantes propiedades medicinales (9); como efectos antioxidantes (10) y citoprotectores. (11), así como en el caso del *Thymus vulgaris* cuyos estudios demuestran la existencia del timol conocido por sus propiedades terapéuticas (12). Sin embargo, se requiere seguir investigando más sobre estas plantas medicinales.

1.2. Identificación y formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y del aceite esencial de *Thymus Vulgaris* (tomillo) frente a cepa *Staphylococcus aureus*?

1.2.2. Problemas específicos

1. ¿El extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) tendrá metabolitos bioactivos?
2. ¿El aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) tendrá metabolitos bioactivos?
3. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) frente a cepas *Staphylococcus aureus*?
4. ¿Cuál es la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepas *Staphylococcus aureus*?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepa *Staphylococcus aureus*.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Identificar los tipos de metabolitos bioactivos presentes en el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada).
2. Identificar los tipos de metabolitos bioactivos presentes en el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo).
3. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) frente a cepas *Staphylococcus aureus*.
4. Determinar la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepas *Staphylococcus aureus*.

1.4. Justificación

La investigación realizada se justifica en proveer sustento científico al uso de productos naturales de uso popular, que hoy en día está siendo cada vez más aceptada en todos los estratos sociales. Esta aceptación es debido a la resistencia intrínseca de especies patógenas y las constantes apariciones de cepas resistentes a los antibióticos convencionales, que obligaron a la población a buscar nuevas alternativas terapéuticas, pero con estudios científicos que sustenten sus propiedades medicinales.

Ante esta problemática fue conveniente realizar un estudio experimental demostrando que el extracto acuoso de *Solanum Tuberosum* y el aceite esencial *Thymus vulgaris* son una buena alternativa terapéutica para el control de las bacterias *Staphylococcus aureus*, dando una solución al problema de resistencia bacteriana. De esta manera la administración de remedios tradicionales podrían mejorar el acceso a la atención de salud al ser usado en el sistema oficial de salud, garantizando su control.

La importancia del presente estudio radica en la búsqueda de productos alternativos de comprobada acción antibacteriana las cuales se puedan obtener de la flora o fauna propia del país y de nuevos agentes antibacterianos. Asimismo, sirva como base para estudios futuros en la práctica profesional e investigativa.

1.5. Limitaciones de la investigación

La presente investigación tuvo como limitación principal la obtención de la cepa *Staphylococcus aureus*.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

2.1.1. Antecedentes Nacionales

LÓPEZ Y. (2017), realizó un estudio experimental titulado “Efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus*”. Obteniendo como resultado que *Staphylococcus aureus* fue muy sensible frente al extracto al 25 por ciento ($17,75 \pm 1,05$ mm), mientras que en el extracto al 50 por ciento y el extracto al 100 por ciento fue sumamente sensible obteniendo como resultados: ($22,17 \pm 0,94$ y $25,42 \pm 1,62$ mm respectivamente), los resultados de la CMI fue: 500 mg /dL (extracto al 50 por ciento). Los compuestos fitoquímicos encontrados en el extracto acuoso principalmente fueron compuestos fenólicos y aminoácidos libres. Con estos resultados se confirmó la hipótesis de manera positiva concluyendo que *Solanum tuberosum* (papa fermentada) posee efecto inhibitorio *in vitro* sobre cepas de *Staphylococcus aureus* comparado con vancomicina y oxacilina (13).

VIDAURRE C. et al. (2016), realizaron un estudio experimental que se titula “Extracción, caracterización y evaluación del efecto antimicrobiano a diferentes concentraciones del aceite esencial de tomillo (*Thymus*

Vulgaris) en carne de pollo deshuesada almacenada en refrigeración”. Mostrando que con tratamientos con una concentración de 2500 ppm de aceite esencial de tomillo permitió mantener por más tiempo las características sensoriales de la carne de pollo (14).

PESANTES P. (2015), realizó un estudio experimental titulado “Efecto antibacteriano *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) en cepas de *Escherichia coli* comparado con gentamicina y ceftriaxona”, donde buscó demostrar el efecto antibacteriano *in vitro* con cepas aisladas de urocultivos, dando como resultado que el extracto posee efecto antibacteriano sensible en un 90 por ciento comparado con gentamicina que sólo mostro 43.3 por ciento. El efecto antibacteriano intermedio o moderadamente sensible para el extracto fue un 6.7 y 30 por ciento para gentamicina, el extracto tuvo baja resistencia con 3.3 por ciento y gentamicina obtuvo 26.7 por ciento. La comparación del efecto antibacteriano frente a ceftriaxona obtuvo una acción antibacteriana sensible a un 20 por ciento y un 60 por ciento para ceftriaxona, el efecto moderadamente sensible o con efecto intermedio fue a un 73.3 por ciento para el extracto y un 36 por ciento para ceftriaxona; el extracto presentó resistencia a un 6.7 por ciento y ceftriaxona a un 3.3 por ciento. Concluyendo que el extracto tiene acción antibacteriana frente *Escherichia coli* y que es moderadamente sensible frente a la ceftriaxona siendo mayor la gentamicina (15).

AGUILAR N. (2015), realizó un estudio que se titula “Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* "tomillo" sobre bacterias prevalentes en patologías de origen endodóntico”. Para determinar la actividad antibacteriana en concentraciones de 50 por ciento, 30 por ciento, 15 por ciento y 7.5 por ciento se usaron las cepas de *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* y como control positivo la clorhexidina al 2 por ciento. Obteniendo como resultados con

las cepas de *Fusobacterium nucleatum* que los halos de inhibición aumentaron al aumentar la concentración, explicando que el efecto es debido a la presencia de timol y carvacrol en planta. Los halos inhibitorios que también fueron mayores que los del grupo control positivo, en 3mm *Fusobacterium nucleatum* y de 5mm *Enterococcus faecalis* por lo que concluye que el aceite esencial trabajado es más afectivo que la clorhexidina y lo considera como una posible alternativa para reducir las colonias bacterianas del conducto radicular (16).

SANDOVAL M. et al. (2015), realizaron un estudio con diseño básico-experimental *in vivo* titulado “Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* ‘papa’ en la mucosa gástrica de animales de experimentación” (15), con 60 ratas separadas en 6 grupos: Grupo I (GI) NaCl 0,9 por ciento, 10 mL/kg; Grupo II (GII) etanol al 70 por ciento a 10 mL/kg; Grupo (GIII, IV y V) Tocosh equivalente a 900 mg/kg, 1 800 mg/kg y 2 700 mg/kg, respectivamente, y Grupo VI (GVI) sucralfato 30 mg/kg., obteniendo el tejido gástrico de las ratas por laparotomía abdominal a la hora de haber sido administrado el etanol para producir la injuria. Se identificó en la marcha fitoquímica compuestos fenólicos, alcaloides, triterpenoides y esteroides, azúcares reductores y aminoácidos libres como metabolitos secundarios. Los resultados fueron: las dosis de 2 700 mg/kg y 900 mg/kg resultaron en 0,72 y 1,81 nmol/g tejido de lipoperoxidación, respectivamente. Mientras que la dosis de 1 800 mg/kg protegió un 97 ciento del área de la mucosa gástrica, 2 700 mg/kg un 95 por ciento y la de 900 mg/kg, 88 ciento ($p < 0,05$). La dosis de 1 800 mg/kg exhibió mejor efecto citoprotector y la de 2 700 mg/kg mejor actividad antioxidante, comparada con sucralfato 30 mg/kg. Por lo que se concluyó que el tocosh de *Solanum tuberosum* ‘papa’ tiene efecto citoprotector y actividad antioxidante (17).

MENESES R. (2015), realizó un estudio que se titula “Efecto antiséptico de un enjuague bucal, formulado con el aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “tomillo”, frente al *Streptococcus mutans* ATC 25175”, donde determinó el grado de sensibilidad bacteriana en función al tamaño de los halos inhibitorios, permitiendo obtener la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), usando como grupo control positivo enjuague bucal Listerine y como negativo el vehículo hidroalcohólico, demostrando que el enjuague bucal formulado con el aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “tomillo”, inhibían el crecimiento del *Streptococcus mutans*, a las tres concentraciones (0.5 por ciento, 1 por ciento y 1.5 por ciento) pero el resultado muestra que el Listerine, tiene un grado mayor de diferencia significativa y que la CMI del enjuague con el aceite esencial es de 0.5 por ciento, concluyendo que el enjuague con el aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. “tomillo” presentaba el efecto antiséptico frente *Streptococcus mutans* que es causa de caries dentales (18).

SOTO M. et al. (2014), realizaron un estudio con diseño experimental, titulado "Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia *Solanaceae*." Se usó las hojas frescas de *Solanum multifidum* Lam y *Lycianthes* y 80 ratones, aplicando la técnica de difusión en agar con discos impregnados, se trabajó con tres cepas: *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25992) y *Pseudomona aeruginosa* (ATCC 27853), obteniendo alcaloides totales en ambas especies, estos presentaron actividad antinociceptiva a las dosis de 2,5 mg/kg, 5 mg/kg y 10 mg/kg, mostrando mayor porcentaje de inhibición, a dosis de 10 mg/kg, además que los alcaloides presentes inhibieron el crecimiento de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, y *Pseudomona aeruginosa*, a concentraciones de 2 mg/mL y 4 mg/mL, hallando mayor efecto antibacteriano en *S. aureus* y concluyendo que existe actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de ambas especies (19).

ROJAS J. et al. (2012), realizaron un estudio titulado “Evaluación del efecto anti-*Trypanosoma cruzi* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L (tomillo) y su principal componente, timol, en ratones”, donde estudiaron el efecto anti-*Trypanosoma cruzi* y se comparó el aceite esencial del tomillo y el timol en un estudio experimental *in vitro*, midiendo el resultado de la parasitemia; se encontró una reducción significativa en el número tripomastigotes y amastigotes y de infiltrados inflamatorios en tejido cardíaco en el estudio histopatológico; concluyendo que ambos tienen efecto anti-*Trypanosoma cruzi in vivo*, en ratones (20).

2.1.2. Antecedentes Internacionales

PANCHI L. (2016), realizó un estudio *in vitro* que se titula “Efecto antimicrobiano de los extractos de las hojas de tomillo (*Thymus vulgaris*) y de las pepas de ajo (*Allium sativum*) sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*. Estudio *in vitro*”. Para evaluar el efecto antibacteriano de hojas de tomillo y pepas de ajos frente a *Enterococcus faecalis* causantes de infección de los conductos radiculares demostraron que el extracto de tomillo no tiene efecto antibacteriano a diferencia de las pepas de ajo. (21).

AMANPOUR R. et al. (2015), realizaron un estudio experimental *in vitro* titulado “Efectos antibacterianos de la cáscara *Solanum tuberosum* extracto etanólico”, para investigar los efectos antibacterianos del extracto etanólico de *Solanum tuberosum in vitro* sobre *Streptococcus pyogenes*, *Staphylococcus aureus* PTCC 1113, *Pseudomonas* PTCC 1430 y *Klebsiella pneumoniae* PTCC 1053; dando como resultados que el extracto etanólico de la cáscara de *Solanum tuberosum* posee propiedades antibacterianas, además de determinar que poseen compuestos fenólicos llamados flavonas y antocianinas conocidas por sus acciones antibacterianas, antivirales y anti fúngicas, siendo mayores

en bacterias Gram positivas, especialmente *S. aureus* ($0,62 \pm 0,00$ mg/ml) y *S. pyogenes* ($1,25 \pm 0,00$ mg/ml), en comparación a Gram-negativas, *P. aeruginosa* ($8,33 \pm 2,88$ mg/ml), sin tener efecto frente a *K. pneumoniae* (22).

MATIZ G. et al. (2015), realizaron un estudio experimental titulado “Actividad antibacteriana *in vitro* de diecinueve aceites esenciales frente a bacterias asociadas al acné”. Bacterias como *Propionibacterium acnés*, *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, demostrando que sólo 7 de los 19 aceites fueron capaces de inhibir el crecimiento bacteriano en más del 90 por ciento para las tres cepas. La concentración mínima inhibitoria osciló entre 300 y 900 ppm. Los aceites esenciales que alcanzaron las más bajas concentración mínima inhibitoria fueron en orden: tomillo (*Thymus vulgaris L.*), canela (*Cinnamomum verum J. Presl*) y clavo (*Eugenia caryophyllata T.*) (23).

ROJAS M. et al. (2014), realizaron un estudio experimental que se titula “Actividad antibacteriana de aceites esenciales sobre *Pectobacterium carotovorum subsp. Carotovorum*”, para identificar las actividades antibacterianas de: “*Thymus vulgaris L.* (tomillo), *Pimpinella anisum L.* (anís), *Citrus sinensis (L.) Osbeck.* (Naranja dulce), *Ocimum basilicum L.* (albahaca blanca), *Curcuma longa L.* (cúrcuma), *Ruta chalepensis L.* (ruda) y *Melaleuca quinquenervia (Cav) S.T. Blake* (melaleuca) sobre *Pectobacterium carotovorum subsp. Carotovorum*”, hallándose monoterpenoides como el timol (57 por ciento), el p-cimeno (14,7 por ciento) y el g- terpineno (14,1 por ciento), siendo el timol que demostró un elevado efecto antibacteriano principalmente el de tomillo (CMI = CMB = 0,1 ciento) (24).

KIM J. et al. (2013), realizaron un estudio experimental titulado “PG2,- un potente AMP (adenosin mono fosfato cíclico) contra cepas

microbianas patógenas, de patata (*Solanum tuberosum* L cv. Gogu Valley) tubérculos no citotóxicos contra células humanas.” Logró aislar un potente (AMP) péptido anti fúngico y antibacteriano (péptido-G2, PG-2), demostrando actividad antimicrobiana contra *Candida albicans*, (levadura patógena humana) y *Clavibacter michiganensis* subsp. *Michiganensis*, (cepa del tizón tardío de la papa); *Staphylococcus aureus* (sin lisar los glóbulos rojos humanos y termoestable). Concluyen que este tiene potente actividad antibacteriana frente a patógenos tanto humanos como vegetales en concentraciones que oscilan entre 3.12 y 25 μM , pero no ejercen efectos hemolíticos en concentraciones de hasta 40 μM (25).

COY C. et al. (2013), realizaron un estudio titulado “Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia.” frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Así, mediante cromatografía gaseosa-espectrometría de masa se obtuvo los siguientes resultados: romero [piperitona (21,9 por ciento), α -pineno (14,9 por ciento) y linalool (14,9 por ciento)]; tomillo [1,8-cineol (21,5 por ciento) y o-cimeno (17,9 por ciento)]; cúrcuma, [turmerona (36,9 por ciento), α -turmerona (18,9 por ciento) y β -turmerona (13,6 por ciento)]. Y el *Staphylococcus aureus* resultó ser el microorganismo más sensible (26).

CASCO J. (2011), realizó un estudio experimental preclínico titulado “Evaluación de la actividad gastroprotectora del extracto crudo de papa (*Solanum tuberosum*) en úlceras de estómago inducidas con etanol en ratas (*Rattus norvegicus*).” Se usó la variedad súper chola para la preparación del extracto acuoso a dosis 3 (7.5mg/3ml) por un período de 6 días para luego hacer la biopsia a las ratas. Posteriormente se realizó análisis fitoquímico del tubérculo hallando compuestos fenólicos,

polisacáridos y espuma. Los resultados demostraron actividad gastroprotectora del extracto con cicatrización total de la mucosa afectada (27).

SILVA N. et al. (2011), realizaron un estudio experimental titulado “Componentes bioactivos de residuos de papa: un recurso para la desinfección de aguas.” Estudio realizado para un posible aprovechamiento de los glicoalcaloides de los residuos de papa en la aplicación de la desinfección del agua residual. Según estudios anteriores han mostrado que los extractos naturales de papa tienen eficacia en la reducción de bacterias indicadoras de contaminación en aguas residuales (*E. coli* y *salmonella*) (28).

BONTEMPO P. et al. (2013), realizaron un estudio experimental titulado “Actividades antioxidantes, antimicrobianas y anti-proliferativas de *Solanum tuberosum* L. var. Vitelotte”, cuya variedad posee pigmentos (antocianinas) de conocida actividad antibacteriana y ligera actividad anti fúngicas. Los resultados obtenidos indicaron que la más afectada fue el *Staphylococcus aureus* y el hongo *Rhizoctonia solani*. Además, se encontró que en diferentes modelos de células cancerosas las antocianinas causan la inhibición de la proliferación y la apoptosis de una manera dependiente de la dosis. Probablemente estas actividades biológicas se deban al contenido alto de malvidin 3-O-p-coumaroyl-rutinoside-5-O-glucósido y petunidina 3-O-p-coumaroyl-rutinosida-5-O-glucósido que posee” (29).

2.2. Bases legales

2.2.1. Normas Nacionales:

- Ley N° 26821: " Ley Orgánica para el aprovechamiento Sostenible de los Recursos Naturales" (30).

Artículo 2°: la presente Ley Orgánica tiene como objetivo promover y regular el aprovechamiento sostenible de los recursos naturales, renovables y no renovables, estableciendo un marco adecuado para el fomento a la inversión, procurando un equilibrio dinámico entre el crecimiento económico, la conservación de los recursos naturales y del ambiente y el desarrollo integral de la persona humana.

Artículo 3°: se consideran recursos naturales a todo componente de la naturaleza, susceptible de ser aprovechado por el ser humano para la satisfacción de sus necesidades y que tenga un valor actual o potencial en el mercado, tales como:

c. la diversidad biológica: como las especies de flora, de la fauna y de los microorganismos o protistos; los recursos genéticos, y los ecosistemas que dan soporte a la vida (ley del 25/06/97)

- Ley 29459: Ley de productos farmacéuticos, dispositivos médicos y productos sanitarios (31).

Artículo 12°: de los medicamentos herbarios. La comercialización de medicamentos herbarios, sus preparados obtenidos en forma de extractos, liofilizados, destilados, tinturas, cocimientos o cualquier otra preparación galénica con finalidad terapéutica, en la condición de fórmulas magistrales, preparados oficinales o medicamentos se sujeta a los requisitos y condiciones que establece el reglamento 024-2011

MINSA. Las plantas medicinales de uso tradicional y otros recursos de origen natural de uso medicinal que se ofrezcan sin referencia a propiedades terapéuticas, diagnósticas o preventivas pueden comercializarse sin registro sanitario.

- Ley de plantas medicinales peruanas (32).

Artículo 1º: la Ley de Plantas Medicinales forma parte de la legislación de la Política Nacional de Salud, tiene por objeto, regular la producción, procesamiento, uso y la comercialización de plantas medicinales y de sus productos derivados. Se aplica a las plantas medicinales desarrolladas dentro del territorio del Perú.

Artículo 2º: defínase como plantas medicinales, aquellas que en su composición tienen sustancias activas con propiedades terapéuticas.

Artículo 3º: en el campo de las plantas medicinales, el Ministerio de Salud es el encargado de revalorar y promover el desarrollo de la investigación, docencia y formación e integración de la Medicina tradicional con la Medicina académica, para contribuir a elevar los niveles de vida y salud de la población nacional, especialmente rural, nativa y urbana. Actuará además como punto de referencia de las medicinas herbáceas, asesorará en materia de su competencia en sectores públicos y privados y cooperará con los organismos especializados en su promoción (1997).

- Ley de aprovechamiento sostenible de Plantas Medicinales de 1999 (33).

Artículo 3º: la nómina de plantas medicinales será aprobada anualmente mediante Decreto Supremo por las autoridades gubernamentales, de acuerdo a la información proporcionada por el Instituto Nacional de

Medicina Tradicional, (INMETRA), el Instituto Nacional de Investigación Agraria, (INIA), el Colegio Químico Farmacéutico del Perú y el Colegio de Biólogos del Perú.

Artículo 4º: es deber del estado velar por el aprovechamiento sostenible de las plantas medicinales.

Artículo 5º: las plantas medicinales de origen silvestre son patrimonio de la nación, las de origen doméstico o cultivadas son susceptibles de dominio privado de acuerdo a la legislación vigente.

Artículo 6º: el derecho de aprovechamiento sostenible de plantas medicinales, se sustenta en acciones orientadas al mantenimiento del equilibrio ambiental, la distribución de los beneficios obtenidos de ellas, el respeto a los derechos de las comunidades nativas y campesinas en base al inventario permanente de las mismas.

Artículo 8º: el Ministerio de Salud a través del Instituto Nacional de Medicina Tradicional (INMETRA), en coordinación con las universidades y organismos competentes es el encargado de la investigación de los usos farmacológicos, toxicológicos, clínicos y formas de consumo adecuado de las plantas medicinales.

2.2.2. Normas internacionales:

Resolución de la Asamblea Mundial de la Salud N° WHA56.31

Insta a los Estados miembros a formular políticas, fomentar la seguridad, la eficacia y calidad, garantizar el acceso y uso idóneo de la medicina tradicional, alternativa y complementaria. (OMS 2003) (34).

Una estrategia sobre medicina tradicional es relevante: la medicina tradicional sigue jugando un importante papel en la atención sanitaria. En muchas partes del mundo es la forma de atención sanitaria preferida. En cualquier otro lugar, el uso de medicinas con base de hierbas y así llamadas terapias complementarias y alternativas está aumentando cada vez más. No existe un único determinante de popularidad. Sin embargo, la aceptación cultural de las prácticas tradicionales, junto con las percepciones de asequibilidad, seguridad y eficacia, y el interrogatorio de los enfoques de la medicina alopática, todos ellos juegan un papel. En vista de este amplio apelativo, la falta general de investigación sobre seguridad y eficacia de las medicinas tradicionales es por lo tanto un tema importante de preocupación. Se necesita urgentemente una estrategia sobre medicina tradicional: Las agencias internacionales, nacionales y no gubernamentales siguen haciendo grandes esfuerzos para asegurar que los tratamientos seguros, eficaces y asequibles para una amplia gama de enfermedades estén asequibles allí donde más se necesiten (8).

2.3. Bases teóricas

2.3.1. *Solanum Tuberosum*

La papa (*Solanum tuberosum*) es una especie perteneciente a la familia solanáceae, originaria de América del Sur, cultivada en todo el mundo por sus tubérculos comestibles. Domesticada en el altiplano andino por sus habitantes hace unos 7000 años, fue llevada a Europa por los conquistadores españoles más como una curiosidad botánica que como planta alimenticia, su consumo fue creciendo con el tiempo y su cultivo se expandió a todo el mundo. Existen 5000 variedades de papa y en el Perú se encuentran alrededor de 3000 (35).

El Perú es el país con mayor diversidad de papas en el mundo, al contar con 8 especies nativas domesticadas y 2,301 de las más de 4,000 variedades que existen en Latinoamérica. Además, nuestro país posee 91 de las 200 especies que crecen en forma silvestre en casi todo nuestro continente (y que generalmente no son comestibles) (36).

Su valor biológico y nutricional es comparable a otras tuberosas andinas, con la diferencia que posee pigmentos y antioxidantes naturales (pigmentos como carotenoides en las amarillas, antocianinas en las rojas y moradas, flavonoides además de fenoles), un alto contenido de materia seca, (24 a 32 por ciento), fibra al ser consumido con su piel, sabor agradable, buena capacidad de almacenamiento, tubérculos con formas, colores diversos y un alto contenido de vitaminas y minerales (37).

Del total de la superficie de papa sembrada en el país, el 58.7 por ciento (215 mil 710 hectáreas) son variedades de papa blanca; en tanto que, el 21.9 por ciento (80 mil 450 hectáreas) son papas denominadas nativas.

Le sigue en importancia la papa amarilla, producto de altísima calidad que corresponde al 13 por ciento de la superficie cultivada, papa huayro (4 por ciento) y papa amarga (2.5 por ciento) (38).

El centro de origen de la papa se ubica entre Perú y Bolivia, cerca del Lago Titicaca para la subespecie *andigenum*, aunque existen muchas especies silvestres en México, Guatemala, Ecuador y Chile. En 1537 Juan de Castellanos hizo la primera referencia de la papa cultivada en el Perú (39).

Existiendo otras especies de *Solanum* y otras tantas sub especies de *tuberosum* se presenta un esquema de la relación de parentesco evolutivo de las papas cultivadas (40). (Ver la tabla N° 01 y la figura N° 01).

Tabla N° 01: Especies de *Solanum* cultivadas en el Perú

Diploides	<i>S. stenotomum.</i>
	<i>S. goniocalyx.</i>
	<i>S. phureja.</i>
	<i>S. x ajanhuiri.</i>
Triploides	<i>S. x chaucha.</i>
	<i>S. x juzepczukii.</i>
Tetraploides	<i>S. tuberosum sub. Sp. Andigena.</i>
	<i>S. tuberosum sub.sp. Tuberosum.</i>
Pentaploides:	<i>S. x curtilobum.</i>

Fuente: Egúsqüiza B.R. Marzo 17, 2008 (40).

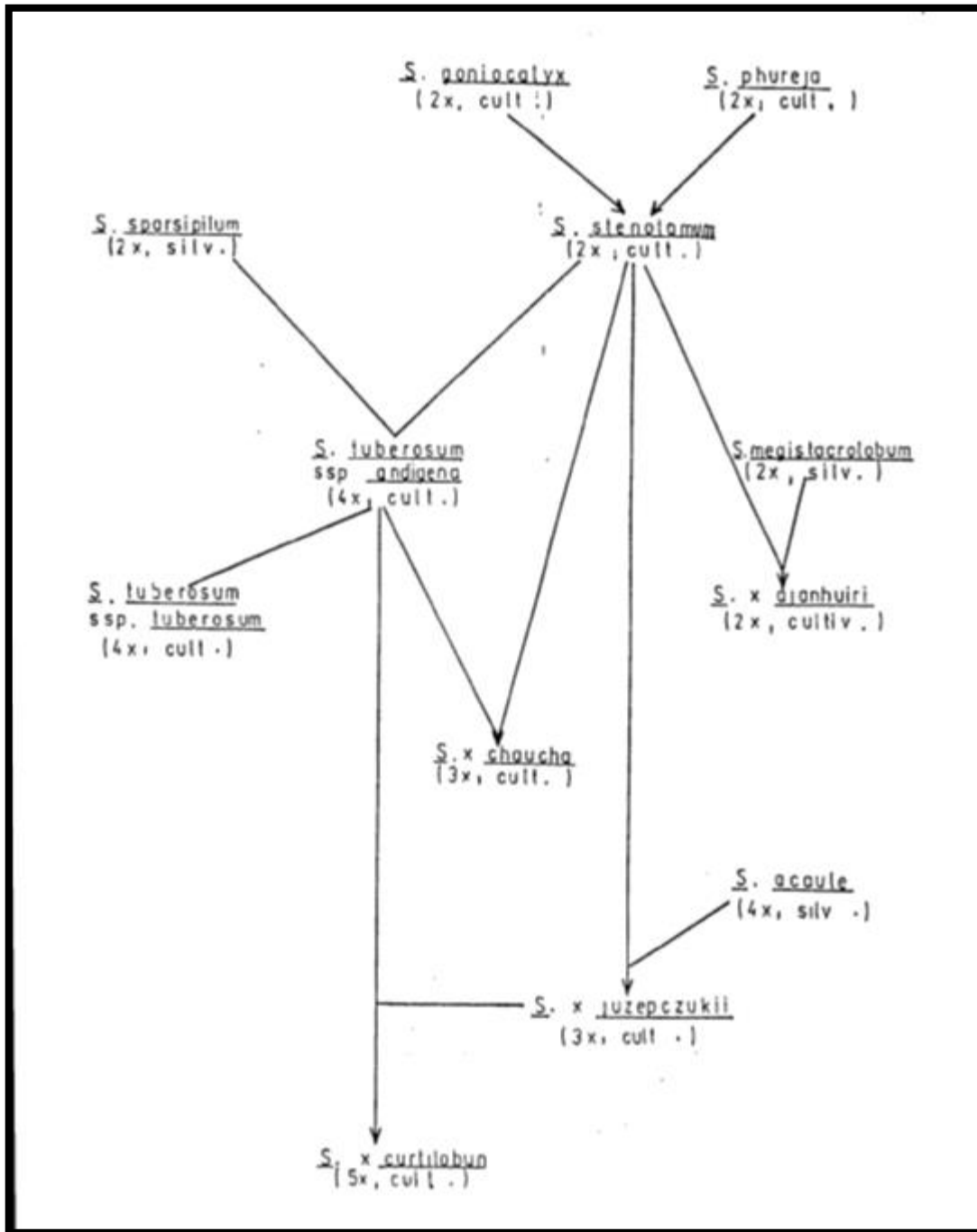


Figura N° 01: Relación de parentesco evolutivo de las papas cultivadas

Fuente: Estrada N. La papa amarga. 1st ed. Rea J, Vacher JJ, editors. La Paz - Bolivia: ORSTOM; 1992 (41).

Variedades de papas usadas en el Perú para la preparación de los diferentes chuños de *Solanum tuberosum* subesp. Andigena, según la tabla N° 02 (42).

Tabla N° 02: Variedad de papas nativas en el Perú

N°	Nombre común	Especie	Subespecie	Almacenamiento	Rango de adaptación
1	Puka Qala Maqta	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.200 msnm.
2	Puka Wakapa Qallun	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 3 - 5 meses	3.400-4.100 msnm
3	Ankapa Sillun	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.200 msnm.
4	Qillu Ipillu	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.200 msnm.
5	Markina	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
6	Challwa	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.200 msnm.
7	Chiqchi Wali	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
8	Casa Blanca	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
9	Qala Wawa	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.500 -4.200 msnm
10	Yuraq Suytu Wayru	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
11	Payapa Ankun	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.200 msnm.
12	Yuraq Ipillu	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.200 msnm.
13	Yana Qala Suytu	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.500 -4.200 msnm
14	Witqi Suytu	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.400 -4.000 msnm
15	Ojos de Caimán	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.400 -4.000 msnm
16	Yutupa Runtun	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.000 -4.000 msnm
17	Azul Wayta	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
18	Yana Manwa	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.800 -4.200 msnm.
19	Kichka Matanka	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm.
20	Duraznillo	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.400 -4.100 msnm
21	Yuraq Azul Nawi	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
22	Azul Nawi Gaspar	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.300 -4.000 msnm
23	Yuraq Maco	<i>Solanum tuberosum</i>	Andigena	Mayor a 5 meses	3.400 -4.100 msnm

Fuente: elaborado por el propio investigador

2.3.1.1. Taxonomía, hábitat y cultivos: expresada en la tabla N° 03.

Tabla N° 03: Taxonomía *Solanum tuberosum*

Reino: Plantae.
División: Magnoliophyta.
Clase: Magnoliopsida.
Subclase: Asteridae.
Orden: Solanales.
Familia: Solanáceas.
Género: <i>Solanum</i> .
Especie: <i>Solanum tuberosum</i> .

Fuente: Elaborado por el propio investigador

Se encuentra en varios tipos de suelo, arenosas, también arcillosos con abundante materia orgánica, buen drenaje y buena estructura; no crecen en terrenos compactados y pedregosos al no poder desarrollarse de manera adecuada, por lo que la profundidad del suelo debe ser mayor a 30 cm, tampoco debe ser muy húmedo por que el tubérculo sería muy acuoso y poco rico en fécula, lo que no permite su conservación. El pH óptimo oscila entre 5.0 a 7.0, soportando el pH ácido entre 5,5 a 6. Es considerada como una planta tolerante a la salinidad. Las papas nativas se desarrollan entre los 3000 a 4200 msnm (43- 45).

Recordando que la altitud ideal para el desarrollo y producción del cultivo de papa para consumo es entre los 1,500 a 2500

msnm, pero puede producirse a alturas menores a 460 msnm, en la época seca (noviembre a febrero) cuando existen condiciones de bajas temperaturas (39).

2.3.1.2. Morfología

Hierbas perennes (aunque estas son cultivadas como anuales) con hojas impares pinnadas 10- 25 cm largo, alternas; con 3-8 pares de folíolos laterales, folíolos intersticiales presentes o ausentes, con 4-25 flores por inflorescencia; pedicelo de 10 a 35 mm de largo y articulado muy cerca de la parte superior a debajo de la mitad; frutas globosas a largas ovoides, de color verde medio a profundo, uniformes, con manchas, bandas blancas o púrpuras, 1-4 cm de largo; tubérculos con colores diferentes puede ser uniforme en todo o con color en los ojos, alrededor, punteado o disperso, forma de tubérculo globosa a ovada a obovada a oblonga a elíptica a alargada, liso a nudosa a digitada (46).

2.3.1.3. Composición química

Se encuentra en hojas y frutos: solanina, demisina, a diferencia de las semillas que no tienen demisina; el tubérculo contiene alcaloides solanina (en ojos y partes expuestas al sol que tomaron color verde), chaconina, demisina, agua, carbohidratos, almidón, albúmina, grasas, proteínas, sales minerales, citrato de calcio, hierro, fósforo, potasio, ácido silico, vitamina C, ácido pantoténico, carotenos, niacina, piridoxina, riboflavina y tiamina (47).

Valor Nutricional : se expresa en la tabla N° 04, según lo descrito por Instituto Nacional de Salud (INS), en las Tablas Peruanas de composición de alimentos (48).

Tabla N° 04: Composición de *Solanum tuberosum*

Cada 100 gramos de papa nativa aportan los siguientes valores	
Energía (en Kilo calorías): 97	Calcio (en miligramos): 9
Energía (en Kilo Jules): 406	Fósforo (en miligramos): 47
Agua (en gramos): 74,5	Zinc (en miligramos): 0,29
Proteínas (en gramos): 2,1	Hierro (en miligramos): 0,50
Grasa total (en gramos): 0,1	Retinol (en microgramos): 3,00
Carbohidratos totales (en gramos): 22,3	Tiamina (en miligramos): 0,09
Carbohidratos disponibles (en gramos): 19,9	Riboflavina (en miligramos): 0,09
Fibra cruda (en gramos): 0,6	Niacina (en miligramos): 1,67
Fibra dietaria (en gramos): 2,4	Vitamina C (en miligramos): 14,00
Cenizas (en gramos): 1,0	

Fuente: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, 1996 (48).

2.3.1.4 Papa fermentada

Técnica milenaria de transformación de la papa

Realizada por los nativos desde las culturas prehispánicas en búsqueda de conservar el alimento en épocas de escases, encontrándole también un uso medicinal. Estas tecnologías de procesamiento aún se mantienen vigentes a lo largo de la zona Andina, en las regiones quechua, jalca o puna, por encima de los 3,500 msnm. Los más conocidos actualmente son:

La “lojota”: conocido como chuño fresco, preparado con fines comerciales de alta aceptación por la población urbana, se vende protegida con paja seca con la intención de evitar que en contacto con el sol se descongele; preparada cuando comienzan las heladas seleccionando las papas amargas variedad “k’aisalla” (forma cónica) y “nazari” (nariz en punta), para dejarlas durante toda la noche en la intemperie separadas entre sí para que todas se congelen guardándose en el día en la sombra para que la noche siguiente se congele por completo. Se sabe que están en perfecto estado cuando al chocarlas entre sí suenan.

El “khachu-chuño” (chuño no maduro): la elaboración es con papa dulces, siguiendo el mismo procedimiento que la lojota sin importar que le llegue el sol por la mañana por no ser con fines comerciales sino familiar.

La “muraya” o “fermentado dentro del agua”: sin fines comerciales sino para consumo familiar por lo que se prepara en pequeñas cantidades, el procedimiento es llevar las papas dentro de un pozo de agua y gracias a la presencia de barro que existe en esta se produce la fermentación sin afectar el producto. Se dejan en el pozo por 20 a 25 días para luego ser lavadas y así se someten a proceso de congelación en la helada. Se pueden dejar varios días y noches hasta que por acción del calor se deshidraten y pierdan la cáscara; para que finalmente con pequeños movimientos se sequen totalmente (49).

Tunta o Chuño blanco: elaborada con papas que crecen a los 3800 m.s.n.m, con tubérculos enteros a los cuales se

deshidratan naturalmente hasta tomar un color blanco, (50) el proceso de elaboración es de aproximadamente 50 días, donde los tubérculos se somete a las heladas por las noches y un fuerte sol en el día, los últimos 5 u 8 días se cubren con paja, con la intención de evitar que se quemem, para luego remojarlas con agua de los ríos por 20 a 30 días (liberación de los glicoalcaloides). Finalmente se retiran del agua para su apisonamiento y eliminación del exceso de líquido y se vuelve a exponer al sol por 5 a 8 días más, y seguidamente se frotan con las manos (51). (Ver la figura N°02 (A)).

Chuño negro: se usan tubérculos pequeños de la variedad de papa nativa común, recordando que estás no se remoja, solo se expone de 5 a 10 días a las heladas nocturnas y un fuerte sol, por lo que no es necesario cubrirla, por lo que el color es un negro característico (51). (Ver la figura N°02 (B)).

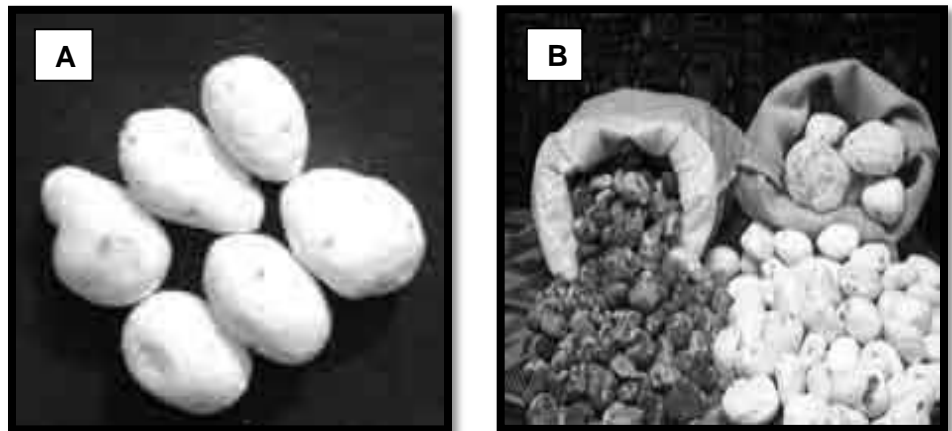


Figura N° 02: Muestra de chuño blanco (A) y chuño negro (B) provenientes de Ullacachi-Ilave, Puno/ Foto: C. Fonseca

Fuente: Revista de Agroecología 2017 (51).

El tocosh: cuyo nombre significa arrugado y fermentado, es elaborado en todas las comunidades campesinas de Ancash, con papas que son descartadas por amargas para consumo directo, de variedades huayro, iskupuru y blanca, para la elaboración se procede a cavar un hueco de 60 cm de profundidad cerca de la acequia; se acomoda con paja llamada “shicshi” obtenida en el monte, entre esta se coloca la papa tapada con el shicshi y se coloca piedras encima y así la corriente de agua no se lleve las papas, dejándola por mes y medio; transcurrido el tiempo acordado se retira del agua y se coloca en sombra por 3 días; luego se guarda en el shicshi (52).

Conociendo que el efecto antibacteriano del tocosh es debido a que la papa podrida contiene penicilina natural, la cual le concede propiedades bactericidas (53).

En un estudio fitoquímico se encontró la presencia de compuestos fenólicos y antocianinas, flavonoides, taninos y alcaloides, ácidos fenólicos como el ácido clorogénico y vitamina C (54).

Bianeth y Restrepo indica que los fenoles presentes en el tubérculo se hallan en la cáscara y poseen gran actividad antioxidante (55).

El procesamiento de papa moderna y más comercial está pasando del tubérculo fresco que elaboran purés, papas fritas etc. (56). Como se puede observar existen técnicas de transformación de la papa moderna y tradicional. (Ver la figura N° 03).

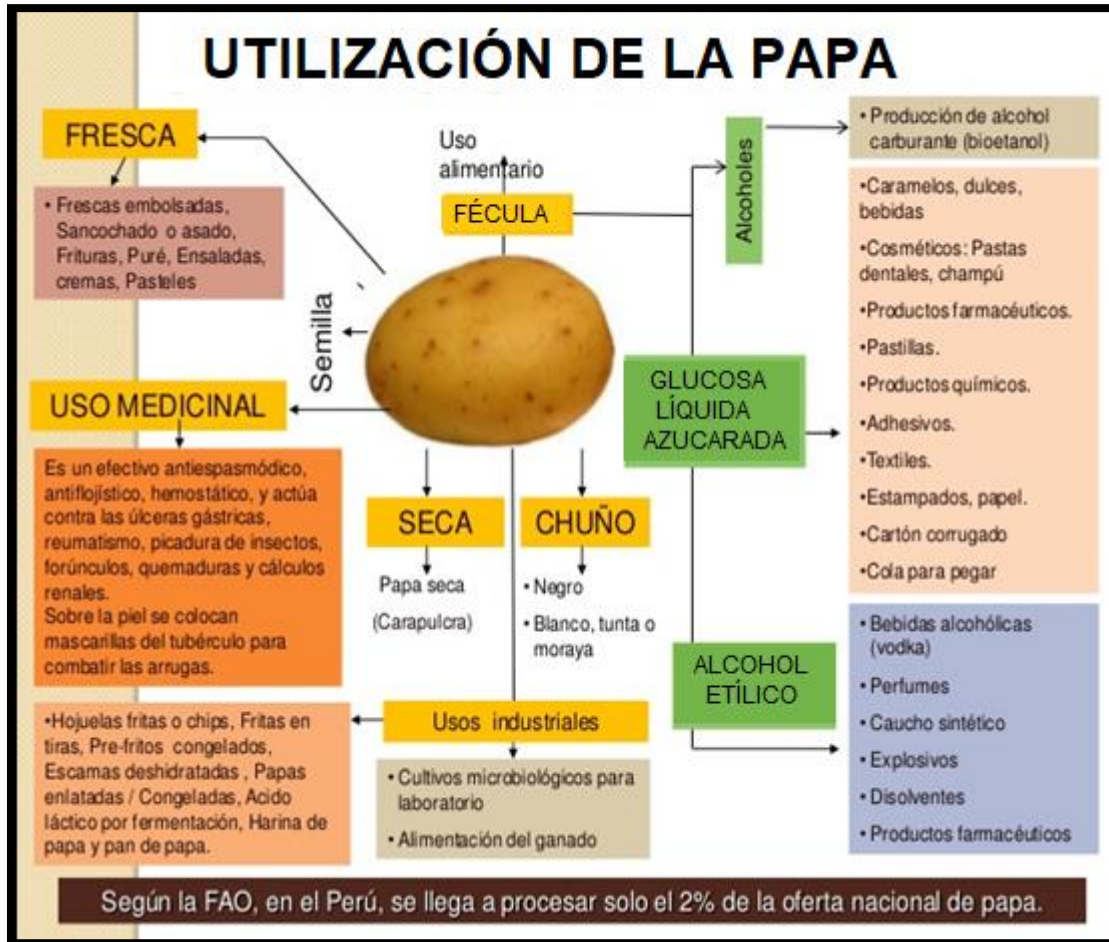


Figura Nº 03: Técnicas de transformación de la papa

Fuente: Florez Cruz DJ. Universidad Nacional Micaela Bastidas De Apurimac (57).

2.3.1.5. Chuño o chuño negro

Se obtiene directamente de la congelación, descongelación, pisado y secado. Sin ser sometido al agua. Concluida la congelación y el pisado se seca al sol, para así convertirse el tubérculo congelado en chuño. Ciertas sustancias presentes en el chuño en contacto con el aire, se oxidan tomando un color característico que va desde el marrón oscuro a negro. Hoy en día los habitantes de las zonas altas, utilizan las prácticas

ancestrales para la elaboración y la clasificación del chuño, cuyo proceso varía de acuerdo a la comunidad campesina.

Pasos para la elaboración del chuño negro:

1. Clasificación y selección: los tubérculos se escogen y se separan en grupos de acuerdo a su tamaño, se escogen tubérculos partidos, agusanados y/o pequeños. El producto final no es de primera calidad.

2. Transporte: se transporta del lugar de almacenamiento hacia el tendal (donde se protegen de la radiación solar).

3. Tendido o Telar: se tienden en el piso y cubierto de paja (ichu) para evitarla sobreexposición a las heladas.

4. Exposición: se exponen a las heladas por 1 día cuando la temperatura es menor a -5°C pudiendo llegar hasta a 5 noches para llegar al punto de congelación (para clarear sería necesario cubrir las papas con paja y manta para que no llegue los rayos solares para evitar la oxidación).

5. Descongelado: consiste en el deshielo del agua por acción de la radiación solar. Luego los tubérculos se ponen suaves al tacto y blandos a la presión.

6. Pisado: es con la finalidad de expulsar el agua, muchas veces este proceso se omite para la obtención del chuño negro afectando así la calidad del producto, obteniendo un chuño con mayor peso y con un olor fuerte característico.

7. Secado: el secado es por la acción de la radiación solar por un aproximado de 6 a 10 días hasta que quede con un contenido de sólo 12 a 13 por ciento de humedad. En esta fase, se remueve constantemente para acelerar el secado.

8. Pelado: Cuando el producto se encuentra finalizando el secado, también se va frotando o raspando de manera manual con la finalidad de terminar el pelado y presentar el producto final con un acabado correcto.

9. Venteado: Airear el producto para separar el polvo, cáscaras e impurezas.

10. Almacenado: en lugares secos, aireados y de bajo techo (40).

La figura N° 04 indica los procesos de elaboración de chuño negro (a y b) y un proceso de elaboración de tunta o chuño blanco (c).

Flujos de procesamiento de chuño negro:



Figura N° 04: Procesos de elaboración del chuño negro (A y B) y blanco (C)

Fuente: Estrada N; Vallenas M. La papa amarga. 1st ed. Rea J, Vacher JJ, editors. La Paz – Bolivia:ORSTOM;1992. (41)

El chuño, según estudios, tiene mejor composición nutricional que la papa fresca, debido a que la obtención de sus nutrientes se da mediante procesos de transformación que dentro de la papa va ocurriendo por acción a la exposición a las fuertes heladas (58). (Ver la tabla N° 05).

Tabla Nº 05: Composición de la papa Chuño negro del Perú

Cada 100 gramos de papa Chuño negro aportan los siguientes valores:	
Energía (kilo calorías): 333	Fibra (g): 1.90
Proteínas (g): 4	Calcio (mg): 44
Grasa total (g): 0.20	Hierro (mg): 0.90
Glúcidos (g): 79.40	Vitamina C (mg): 1.70

Fuente: fundación universitaria iberoamericana FUNIBER (59).

Si bien se conoce que la papa *Solanum tuberosum* sintetiza metabolitos de estrés llamados Glicoalcaloides (GAT), los cuales son metabolitos secundarios constituidos por glucósidos esteroidales que contienen nitrógeno (α - solanina y α -chaconina), componentes fitopatógenos que defienden a la planta del ataque de microorganismos como hongos, virus, bacterias, gusanos e insectos. Estudios previos como el de Silva muestran que dichos extractos naturales de papa “son de eficacia frente a bacterias indicadoras de contaminación de aguas residuales (*E. coli* y *salmonella*)”. El conocimiento de su estructura química ha motivado al estudio de algunas especies de solanáceas que han demostrado tener efecto *in vitro* ante protozoarios flagelados, como *Giardia lamblia* y huevos de helmintos (28).

Según Christiansen (1977), los glicoalcaloides presentes en los tubérculos de papa amarga se encuentran en un rango de 30.01 a 34.28 mg. por cada 100 gr. de papa fresca y la pérdida de glicoalcaloides durante la elaboración del chuño es de 41 por ciento mientras que la tunta es de 89 por ciento (41).

Kuon y Alfaro (1966), determinan que el porcentaje de proteínas en el chuño se encuentra entre 6.07 a 6.53 por ciento según el tipo de variedad de papa usada. Así mismo señalan también rangos más elevados de pérdidas de proteínas en la elaboración del chuño negro es de 21.6 a 35 por ciento, según la variedad (41).

Finalmente, Christiansen en (1977) reporta que las proteínas en el chuño negro son de 4 por ciento y en chuño blanco es 3.8 por ciento; y que al obtener chuño negro la pérdida de proteínas es entre 18 a 30 por ciento y que en el chuño blanco es de 67 a 83 por ciento (41).

2.3.2 *Thymus vulgaris*

Es una planta herbácea nativa de Europa, África y Asia cuyo nombre tomillo proviene del idioma griego antiguo *Thymos* que significa “aroma” u “olor” por ser característico e intenso. Utilizado por sus propiedades medicinales y expandiéndose por todo el mediterráneo se descubrieron nuevos usos; como en el tratamiento de problemas respiratorios, en la conservación de alimentos e inciensos. En el año 1725, se aísla el aceite esencial del *Thymus vulgaris* descubriéndose múltiples propiedades antisépticas, bactericida y fungicida que hasta la fecha son usadas en preparaciones farmacológicas con fines terapéuticos (60). (Ver la figura N°05).



Figura N°05. *Thymus vulgaris* "Tomillo"

FUENTE: Inlago-Guasgua MI. Universidad Central del Ecuador; 2014 (63).

2.3.2.1. Taxonomía, hábitat y cultivo

Pertenece taxonómicamente a la familia Lamiaceae (Ver la tabla N°06). Con número de especies mayor a 500 por la gran facilidad que presenta esta planta aromática para producir hibridaciones, mutaciones y rápida reproducción natural.

Las especies más conocidas son: *Thymus zygis*, *Th. hyemalis*, *Th. vulgaris*, *Th. mastichina*, *Th. citriodorus*, *Th. corydothymus*, *Th. loscossi*, *Th. pipirella*, *Th. rumidicus hispanicus*, *Th. communis*, etc.

El *Thymus vulgaris* recibe otra denominación científica como *Thymus bético* igualmente cuenta con diversas denominaciones populares según la zona como: negro, basto, basto limonero, sucio, etc. (61), (62).

Tabla Nº 06: Taxonomía del *Thymus vulgaris* (tomillo)

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Lamiales
Familia:	Lamiaceae
Género:	<i>Thymus</i>
Especie:	<i>Thymus vulgaris</i> L.
Nombres populares:	Tomillo, Tomillo común, Tomello, Tremoncillo, Estremoncillo.

Fuente: elaborado por el propio investigador.

El tomillo es de origen mediterráneo (Asia occidental, Europa Central y el norte de África). Crece en terrenos ligeros y pedregosos hasta los 2000 m.s.n.m.; se reproducen durante el comienzo de primavera ya sea por semillas o por división de matas, las cuales tardan en germinar de 2 a 4 semanas. Prefieren climas templados, templado-cálido o de montaña, son muy resistentes a las sequias y heladas más no en terrenos excesivamente húmedos.

Las técnicas de cultivo y aprovechamiento son muy variadas, según el lugar o circunstancia, sin embargo, responde extraordinariamente a cualquier técnica de cultivo cultural que se le aplique. El tomillo, adaptado de manera natural a las zonas más áridas nos da una alternativa para aprovechar estas áreas. (61-64).

2.3.2.2. Morfología

El tomillo, es una planta aromática que vive más de dos años; alcanza hasta 40 cm de altura. Puede crecer en distintos tipos de suelos sin mucha humedad. Presenta numerosas ramas leñosas, compactas y parduzcas. Sus hojas miden entre 3 a 8 mm son opuestas, lanceoladas, con bordes enrollados y densamente pilosas.

Las flores son pequeñas de color rosada o blanquecina y se encuentran agrupadas en racimos terminales. El cáliz es color vinoso mide entre 5 mm de largo. La corola mide entre 7 a 8 mm, el labio superior es escotado y el inferior dividido en tres lóbulos con cuatro estambres que sobresalen. (63), (65), (66). (Ver la figura N°06).



Figura N°06: Inflorescencia del Tomillo

Fuente: Inlago-Guasgua MI. Universidad Central del Ecuador; 2014 (63).

2.3.2.3. Composición química

- Ácidos: oleíco, palmítico, nicótico, rosmarínico y linoleíco.
- Fenoles: timol, anetol y borneol, carvacrol y cienol.
- Aminoácidos: cistina, valina, glicina, isoleucina.
- Metales y minerales: aluminio, calcio, cobalto y magnesio, manganeso, hierro.
- Alcoholes: borneol, linalol.
- Terpenos: terpineno; cimeno.
- Flavonoides (derivados de apigenol y luteolol).
- Vitamina B1, vitamina C, taninos, saponinas, triterpenoides, etc. (66).

2.3.2.4 Obtención de aceites esenciales

Son compuestos aromáticos y volátiles que se pueden obtener mediante la destilación por arrastre con vapor de agua. De acuerdo a su origen se clasifican como naturales, artificiales y sintéticos, siendo las naturales las más costosas por su poca obtención es decir bajo rendimiento, sin embargo, en estas no sufre ninguna modificación física ni química. Las utilidades de los aceites esenciales son de mucha importancia en la industria cosmética para la elaboración de perfumes y aromatizantes; en la industria alimentaria como condimentos y saborizantes; e

industria farmacéutica como saborizantes. En cuanto a la forma de administración pueden ser por vía oral, tópica e inhalatoria, pero con precaución debido a que algunos componentes pueden causar efectos adversos o reacciones alérgicas (67-69).

Extracción del aceite esencial: los aceites esenciales pueden extraerse de distintas partes de la planta, tales como hojas, pétalos, flores, corteza u otros. Teniendo en cuenta el lugar donde se ubica la sustancia aromática. Los principales métodos de obtención de aceites esenciales son los siguientes:

- a) **Destilación con agua o hidrodestilación:** es llevar en contacto directo el material vegetal y el agua hirviente, de tal manera que los vapores se condensen para luego separar el agua del aceite. (Ver la figura N°07 (A)).

- b) **Destilación por arrastre con vapor de agua:** este método consiste en arrastrar por el vapor de agua las partes aromáticas del material vegetal a una temperatura inferior a la de la ebullición, para luego ser enfriados en un condensador donde regresa a la fase líquida el agua y el aceite esencial. Finalmente ser separados en un decantador o vaso florentino. (Ver la figura N°07 (B)).

- c) **Destilación con agua – vapor:** se emplea un vapor húmedo obtenido por el calentamiento del agua hasta su ebullición traspasando el material vegetal que se encuentra sobre una malla (70), (71). (Ver la figura N°07 (C)).

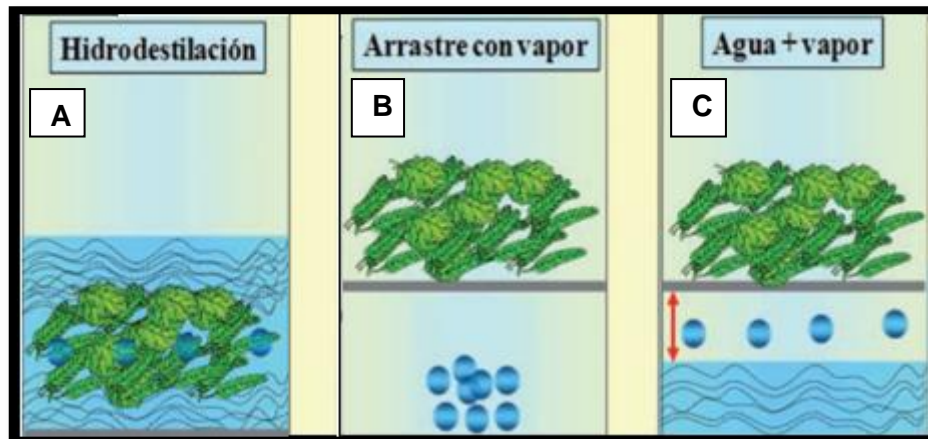


Figura N°07: Extracción de aceites esenciales

Fuente: Stashenko EE. Aceites esenciales, 2009 (71).

2.3.2.5 Aceite esencial de *Thymus vulgaris*:

El aceite esencial de tomillo se extrae mediante el proceso de destilación al vapor de agua de las partes aéreas de la planta con rendimientos medios que oscilan entre el 0,7 por ciento y el 0,9 por ciento, lo que equivale a un litro de esencia por cada 12 a 13 arrobas de tomillo verde, dependiendo de la especie y la zona de cultivo. Sus características principales son su volatilidad; olor herbáceo penetrante y agradable (propia del timol); sabor ardiente; con color entre rojo anaranjado y amarillento; densidad entre 0,90 - 0,91 y viscosidad parecida a la del aceite de oliva (72).

La composición química del aceite esencial del *Thymus vulgaris*: Presenta fundamentalmente; timol (40 por ciento), p-cimeno (15-50 por ciento), alcanfor (11 -16 por ciento), carvacrol (2.5 -14.6 por ciento), linalol (4 por ciento), 1,8- cineol (3 por ciento), y-terpineno (1-5 por ciento), borneol, acetato de bornilo, acetato de Jinalino, geraniol, a y J3-pineno, limoneno (73).

Las propiedades de los componentes del aceite esencial del *Thymus vulgaris* son:

El timol: es un compuesto fenólico con propiedades antibacterianas, plaguicidas y fungicida. Su extracción no tiene olor ni sabor desagradable; forma parte de colutorios, enjuagues bucales y pasta de dientes gracias a su efecto refrescante (74).

El carvacrol o cymophenol: es un fenol monoterpénico, isómero del timol que tiene propiedades antibacterianas. También presenta acción antiespasmódica y antiinflamatoria por su acción inhibidora de la síntesis de prostaglandinas (75).

El geraniol: es un monoterpenoide con un grupo alcohol. Compone la mayor parte de los aceites esenciales de las rosas y las citronelas. Tiene un olor rosáceo, por lo que es comúnmente empleado en perfumes (76).

El linalol: es un terpeno con un grupo alcohol que se encuentra de forma natural en muchas flores y plantas aromáticas. Su olor floral con un toque mentolado le ha conferido cierto valor para su uso en productos aromáticos (77).

El gamma terpineol: es un isómero del terpineol, el cual es un monoterpeno de alcohol terpineol, es por lo general una mezcla de estos isómeros con alfa-terpineol como componente principal. Terpineol tiene un olor agradable similar a la lila y es un ingrediente común en perfumes y cosméticos (78).

El P-cimeno: es un hidrocarburo natural obtenido de plantas aromáticas (tomillo, comino) y pertenece al grupo químico de

los terpenos. Su capacidad de desengrase es inferior a la de los hidrocarburos clorados, pero presenta la ventaja de ser biodegradable. Es una sustancia inflamable y por lo tanto no se puede utilizar en procesos de desengrase con aportación de calor (79).

El uso tradicional del aceite esencial del *Thymus vulgaris* están relacionados a su efecto antimicrobiano, antihelmíntico, antirreumático, antiséptico, anti fúngico, antiespasmódico, antitusígeno, cicatrizante, estimulante del sistema inmunitario, etc. (80).

Los efectos adversos son debidos a la alta concentración ya que sus componentes tienen la propiedad de causar irritabilidad en la piel o alergias de tipo dermatitis, por lo que se encuentra contraindicando en personas con hipersensibilidad a algún componente, durante el embarazo y lactancia ya que no hay estudios que avalen su seguridad (81).

2.3.3 Bacterias

Se proponen 3 dominios de acuerdo al árbol de la Vida de Woese: los dominios *Archeae* y *Bacteria* corresponden a las células procariotas (células que carecen de membrana nuclear), importantes ya que han desarrollado una pared celular o membrana externa que le otorga autonomía y protección, constituyendo la forma de vida más abundante; el dominio bacteria incluye tanto a bacterias Gram negativas como Gram positivas, mientras que en el dominio *Eukarya* los organismos poseen membrana nuclear y orgánulos más desarrollados; es de aquí que derivan todos los organismos eucariontes uní y multicelulares.

Otra clasificación es la de Whitaker y Margulis que describen la existencia de cinco reinos: Animalia, Plantae, Fungí, Protista y Mónera, en éste último se incluyen todas las bacterias. (82).

2.3.3.1. Clasificación de las bacterias

Se clasifican en bacterias Gram positivas y Gram negativas por la tinción que adquieren con el cristal violeta y lugol. La pared celular es responsable de lo que le sucede al colorante utilizado en la tinción de Gram (1884). Tanto las Gram positivas como los Gram negativas captan la misma cantidad de cristal violeta (CV) e yodo (I). El complejo CV-I, sin embargo, es atrapado dentro de la célula Gram positiva por la deshidratación y la reducción del tamaño de los poros de la pared resultante del proceso de lavado con solvente. En contraste, en las Gram negativas, la fina capa de peptidoglicano (y probablemente discontinua) no impide la extracción por el solvente del complejo. (83)

Bacterias Gram positivas

Son aquellas que se tiñen de color azul oscuro o violeta por acción de la tinción Gram. Posee una pared celular formada en un 90 por ciento de peptidoglicano, siendo este el principal componente que lo diferencia con la pared de las Gram negativas, ya que al teñirlas, es gracias al grosor de la pared celular que se logra mantener la coloración del cristal violeta en el interior de la célula. (84)

Las Gram positivas se clasifican de acuerdo a su forma o a sus requerimientos atmosféricos: aerobios y anaerobios facultativos (85). (Ver la tabla N° 07).

Bacterias Gram negativas

Tienen una reacción con la tinción Gram en su pared celular, tiñéndose de color rosa, ya que no retienen el colorante de cristal violeta durante el proceso de coloración porque presentan una capa muy delgada de peptidoglucano en su pared celular y su capa más externa está cubierta por una membrana de lipoproteínas. La presencia de lipopolisacáridos (endotoxinas) en la parte externa de la membrana celular desencadena una respuesta inmune (86).

Bacterias aerobias estrictas: son aquellas que realizan la respiración celular necesitando de oxígeno para su metabolismo.

Bacterias anaerobias estrictas: son los que no utilizan oxígeno en su metabolismo, ya que este elemento es tóxico para ellos.

Bacterias anaerobias facultativas: son aquellas que pueden desarrollarse tanto en presencia como en ausencia de oxígeno. Pueden desarrollar un metabolismo respiratorio, usando el oxígeno presente o fermentativo, en ausencia de oxígeno. (86) (Ver la tabla N°07).

Tabla Nº 07: Clasificación de bacterias

GRAM (+)	GRAM (-)
AEROBIOS Y ANAEROBIOS FACULTATIVOS	AEROBIOS ESTRICTOS
Familia: <i>Micrococacceae.</i> - <i>Micrococcus</i> <i>Staphylococacceae</i> - <i>Staphylococcus</i> <i>Planococacceae</i> - <i>Stomacoccus.</i> - <i>Planococcus.</i>	Genero <i>Campylobacter</i> <i>Helicobacter pylori</i>
	Familia: <i>bacilos y cocos</i> - <i>Pseudomonas</i> - <i>Legionellaceae</i> - <i>Moraxelaceae</i> - <i>Brucellaaceae</i> - <i>Neisseriaceae</i>
ANAEROBIOS ESTRICTOS	ANAEROBIOS ESTRICTOS
<i>Peptococcus</i> <i>Peptoestreptococcus</i>	<i>Fusobacterium</i> <i>Bacterioide</i> <i>Prevotella</i> <i>Porphyromonas</i> <i>Veillonellaceae</i>
	ANAEROBIAS FACULTATIVAS
	Familia- <i>Enterobacteriaceae:</i> <i>.Escherichia:(E.coli)</i> . <i>.Salmonellas:(s. Tiphy,s.enteriditis).</i> . <i>.Serratia. · Shigellas. Klebsiella.</i> <i>.Vibrionaceae:-Photobacterium,</i> <i>Lucibacterium,,Aeromonas, Pleisomonas y</i> <i>Vibrio.</i> <i>.Pasteurellaceae: Haemophilus</i>

Fuente: Elaborado por el propio investigador.

2.3.4. *Staphylococcus*

Los miembros del género *Staphylococcus* son cocos Gram positivos, catalasa positivos y el diamino ácido en el peptidoglicano es la L-lisina, poseen tendencia a agruparse en racimos, tienen forma esférica y un diámetro de alrededor de una micra, su forma de obtener energía es a través de la fermentación como de la respiración, en cuanto al cultivo, no son exigentes desde el punto de vista nutricional, crecen en medios pobres y simples químicamente definidos los cuales están compuestos de glucosa, sales, aminoácidos, tiamina y ácido nicotínico, crecen bien en rangos de pH de 4.8 a 9.4 y a temperaturas de 25 a 43°C, son aerobios-anaerobios facultativos siendo muy resistente a las condiciones ambientales normales, capaz de sobrevivir hasta tres meses en un cultivo a temperatura ambiente, si es expuesto a temperaturas mayores de 60 °C por una hora morirá, es muy sensible a la mayoría de los desinfectantes y antisépticos. Este género *Staphylococcus* posee alrededor de 30 especies, de las cuales 16 de ellas se localizan en humanos, algunas forman parte de la microbiota de la piel, mucosas y otras se encuentran en la flora de otros mamíferos y aves. Entre ellas *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. capitis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, etc. (87), (88). (Ver la tabla N° 08).

Tabla N° 08: Tipos de *Staphylococcus*

ESPECIE	CAUSA DE ENFERMEDAD	
<i>S. aureus</i>	Común	Infecciones a piel y tejidos blandos.
<i>S. epidermidis</i>	Común	Presente en piel y mucosas.
<i>S. saprophyticus</i>	Común	Infecciones del tracto urinario.
<i>S. haemolyticus</i>	Infrecuente	Coloniza axilas y pubis.
<i>S. lugdunensis</i>	Infrecuente	Infecciones a piel y tejidos blandos.
<i>S. schleiferi</i>	Infrecuente	Endocarditis, infección de Tejidos blandos.
<i>S. saccharolyticus</i>	Rara	Endocarditis Infecciosa.
<i>S. warneri</i>	Rara	Infección en inmunodeprimidos.
<i>S. hominis</i>	Rara	Infección en inmunodeprimidos.
<i>S. auricularis</i>	Rara	Infección oportunistas o sepsis.
<i>S. xylosum</i>	Rara	Flora de la piel humana y animal.
<i>S. simulans</i>	Rara	Infecciones de dispositivos humanos
<i>S. capitis</i>	Rara	Infecciones cuero cabelludo.
<i>S. cohnii</i>	Rara	Infecciones a piel y tejidos blandos.

Fuente: elaborado por el propio investigador

2.3.4.1. *Staphylococcus aureus*

Según la taxonomía que se expone en la tabla N° 09, su descripción es la siguiente:

Tabla N° 09: Taxonomía de *Staphylococcus aureus*

Reino	Bacteria
Filo	Firmicutes.
Clase	Bacilli.
Orden	Bacillales.
Familia	<i>Staphylococcaceae</i> .
Genero	<i>Staphylococcus</i> .
Especie	<i>Aureus</i> .

Fuente: Bodero, 2010. (89)

A pesar que posee numerosos factores de virulencia, puede convivir con el huésped formando parte de su flora normal sin causar ningún daño (90).

Esta bacteria tipo patógena es responsable de un amplio espectro de enfermedades, desde infecciones de piel y tejidos blandos hasta infecciones graves pudiendo poner en riesgo la vida, presentes en un 25 por ciento de personas sanas. Prevalecen más en humanos con infecciones de piel, ojos, nariz o garganta, puede provocar intoxicación alimentaria cuando la comida es contaminada y refrigerada inadecuadamente, su período de incubación es de 1 a 6 horas, multiplicándose rápidamente a temperatura ambiente, generando una toxina que da origen a la enfermedad (91).

S. aureus crece bien en medios de cultivo no selectivos como agar sangre, agar chocolate o agar infusión cerebro-corazón, también en medios líquidos usados para hemocultivos permiten

recuperar fácilmente este microorganismo (92). (Ver las figuras N° 08 y N° 09).

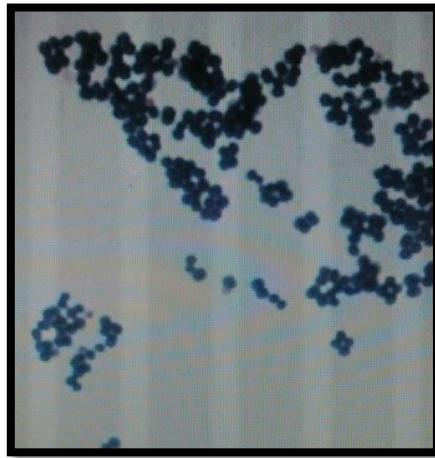


Figura N°09. Morfología microscópica *Staphylococcus aureus*

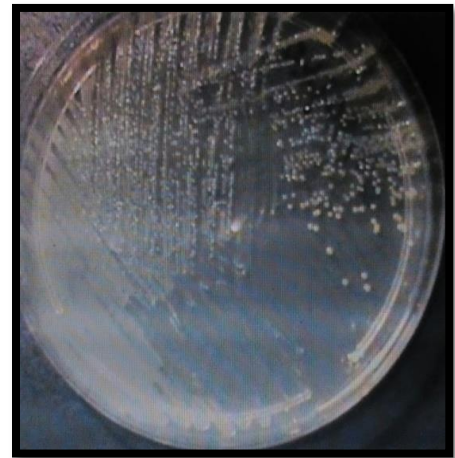


Figura N° 08. Morfología macroscópica *Staphylococcus aureus*

Fuente: Boderó, 2010 (89).

2.3.4.2. Enfermedades causadas por *Staphylococcus aureus*

Responsable de una amplia gama de infecciones desde infecciones cutáneas superficiales, de partes blandas y óseo-articulares como abscesos profundos, celulitis, infección de heridas quirúrgicas, infecciones metastásicas, osteomielitis, sepsis, neumonías necrotizante, endocarditis a infecciones asociadas a prótesis y catéteres intravasculares e infecciones del sistema nervioso central, pudiendo obtener situaciones de riesgo de vida, algunas cepas causan enfermedades mediadas por toxinas (toxi-infecciones alimentaria); esto, debido a la ingestión de enterotoxina B termoestable preformada (toxina bacteriana de naturaleza proteica, que presentan termorresistencia), producida por una cepa toxígena, síndrome del shock tóxico y síndromes escarlatiniformes (93).

Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) estafilocócica es una de las principales y frecuentes a nivel mundial, la dosis de toxina que desencadena la enfermedad es (1–5 ug/g alimento), produciendo peristaltismo intestinal aumentado (acción simpaticomimético) y excesivos vómitos (acción sobre el SNC). El período de incubación es de 30 minutos a 10 horas (promedio 2 a 6 horas), evolucionando en 1 a 2 días; el 10 por ciento de afectados requiere atención médica, la letalidad es de 0.03 por ciento en toda población y 4 por ciento en niños y ancianos (94).

Gran parte de los brotes son originados por *S. aureus* coagulasa positiva, ya que pocas cepas coagulasa negativa son capaces de producir enterotoxinas, el alimento puede contaminarse de manera endógena o en algún punto de su elaboración; los síntomas pueden aparecer a los 30 minutos a 8 horas después de la ingestión del alimento, la intensidad de los síntomas va depender de la cantidad de alimento contaminado ingerido, de la concentración de toxina y de la susceptibilidad individual. Se presentan con náuseas, dolor abdominal, vómitos, diarrea y postración, los casos más graves pueden presentar cefalea y shock (95).

Staphylococcus aureus Meticilino resistente (SAMR):

Las cepas *Staphylococcus aureus* resistentes en su mayoría se debe a la producción de beta-lactamasa (penicilinasas), enzimas extracelulares de origen plasmídico con la capacidad de hidrolizar el anillo betalactámico impidiendo la actividad antibiótica de las penicilinas (96).

2.3.5 Cefalexina

Es una cefalosporina de primera generación, de acción bactericida presenta mejor eficacia contra bacterias Gram positivas, en su mayoría, a diferencia de las cefalosporinas de segunda y tercera generación. Entre las cepas Gram positivas sobre las que presente excelente acción tenemos: *Staphylococcus* productores o no de penicilinas (ejemplo, *S. aureus*) y *Streptococcus* (excepto los *enterococos*). Frente Gram negativas su espectro es limitado a *E. coli*, *Klebsiella* y *Proteus mirabilis*.

2.3.5.1 Mecanismo de acción

Presenta amplio espectro; se une a las proteínas fijadoras (PBP específicas) que están ubicadas en el interior de la pared celular de la bacteria, Inhibiendo así la síntesis y reparación de la pared celular bacteriana produciendo defectos en ella, estos defectos alteran su permeabilidad y originan la muerte de la bacteria.

Estas proteínas de unión a penicilinas se encuentran en varios cientos a miles de moléculas por célula bacteriana. Y varían entre diferentes especies bacterianas, por lo tanto, la actividad intrínseca de cefalexina depende de su capacidad para acceder y fijarse a la PBPs.

2.3.5.2 Farmacocinética

Distribución: es amplia en tejidos y fluidos, atraviesa la barrera placentaria, no alcanza niveles terapéuticos en el líquido céfalo raquídeo. Obtiene su máxima concentración a nivel de hígado y riñones.

Absorción: es a nivel gastrointestinal de manera rápida y completa, se administra por vía oral. Antes de su absorción en el intestino delgado la cefalexina monohidrato debe ser convertida a clorhidrato en el estómago. Una hora después de su administración alcanza la concentración más elevada en el suero, siendo más baja cuando se consumé con alimentos; en menores de 6 meses la máxima concentración alcanza en 3 horas después de su administración y en niños pequeños de 9-12 meses es más lenta la absorción alcanzando la máxima concentración en 2 horas, mientras que en recién nacidos la absorción disminuye a un 50 por ciento.

Eliminación: la vida media de la cefalexina en suero es de 0,5 a 1,2 horas en adultos con función renal normal, en recién nacidos es de 5 horas y en niños de 3 a 12 meses es en 2,5 horas; se elimina en la orina sin sufrir alteración. Más del 90 por ciento de la dosis administrada oral es excretada en 8 horas, en adultos con función renal normal.

2.3.5.3 Contraindicaciones

Está contraindicado en pacientes con hipersensibilidad a cefalosporinas, pues causan reacciones de hipersensibilidad en ≤ 5 por ciento de los pacientes. Estas reacciones de hipersensibilidad se caracterizan por la aparición de erupciones cutáneas leves hasta anafilaxis fatal (97), (98).

2.4. Formulación de hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

La actividad antibacteriana *in vitro* del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepas *Staphylococcus aureus* es alta.

2.4.2. Hipótesis específicas

1. El extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) posee metabolitos bioactivos.
2. el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) posee metabolitos bioactivos.
3. El extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) presenta alta actividad antibacteriana *in vitro* frente cepas *Staphylococcus aureus*.
4. El aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) presenta alta actividad antibacteriana *in vitro* frente a cepas *Staphylococcus aureus*.

2.5. Operacionalización de variables e indicadores

Tabla 10. Matriz de operacionalización de variables e indicadores

	VARIABLE	CATEGORÍA	DIMENSIONES	INDICADOR
DE ESTUDIO	Variable Independiente Extracto acuoso <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada)	Razón del 5%	Metabolitos bioactivos	Aminoácidos y alcaloides
	Aceite esencial <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo)	90%	Metabolitos bioactivos	Terpenoides, taninos y compuestos fenólicos.
	Variable Dependiente Actividad antibacteriana <i>in vitro</i>	Cuantitativa	Longitud del halo inhibitorio	Diámetro del halo de inhibición según las pautas de Duraffourd. y CLSI

Fuente: elaborado por el propio investigador.

2.6. Definición de términos básicos

Aceites esenciales: compuestos aromáticos naturales y volátiles que se pueden obtener mediante la destilación por arrastre con vapor de agua (68).

Aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris*): es aquel que se obtiene luego de la extracción del aceite esencial a partir de la especie vegetal (72).

Agar: polímero sulfatado complejo de unidades de galactosa, extraído del *Gelidium cartilagineum*, *Gracilaria confervoides* y otras algas rojas asociadas. Se usa en forma de gel en la preparación de medios de cultivo sólidos para microorganismos, como laxante, para la elaboración de emulsiones y como medio de soporte para la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis (99).

Alcaloides: compuestos heterocíclicos y nitrogenados, siendo normalmente derivados de aminoácidos y triterpenos. Actúan como metabolitos secundarios de las plantas que han sido sintetizados partiendo de aminoácidos (100).

Aminoácidos: elementos esenciales de las enzimas que catalizan la síntesis de azúcares, almidón y otros componentes de hojas, flores y frutos. Son de vital importancia en el metabolismo de los seres vivos, desde su condición de ser las unidades estructurales de las proteínas; intervienen en la regulación endógena del crecimiento y desarrollo vegetal (101).

Antibacteriano: sustancias que reducen el incremento gradual del número, tamaño, complejidad y reproducción de las bacterias (99).

Antibiograma: el antibiograma es la prueba microbiológica que se realiza para determinar la susceptibilidad (sensibilidad o resistencia) de una bacteria a un grupo de antibióticos (102).

Antocianinas: son flavonoides pigmentados responsables de la mayoría de los colores de las flores y los frutos. Por ello son importantes en la polinización y en la dispersión de semillas. Son glicósidos con un azúcar en posición 3. Cuando las antocianinas carecen de azúcar se denominan antocianidinas (103).

Bacterias Gram positivas: las bacterias Gram positivas se tiñen de color púrpura con la tinción Gram ya que el colorante queda atrapado en la capa de peptidoglucano (una estructura entrecruzada y gruesa que tiene forma de malla y rodea a la célula) (104).

Bacterias Gram negativas: las bacterias Gram negativas presentan una capa de peptidoglucano incapaz de retener el colorante cristal violeta, por lo que las células se tiñen con el colorante de contraste (safranina) y adquieren un color rojo (104).

Cepa: es un conjunto de células homogéneas o clones, que deriva de la reproducción de una célula inicial única, seleccionada y aislada. También suele referirse a las cepas como colonias puras de bacterias (105).

Compuestos fenólicos: son metabolitos secundarios de las plantas, unidas a estructuras aromáticas o alifáticas, que actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (106).

Efecto antibacteriano *in vitro*: es aquel que produce la muerte o impide el crecimiento de una bacteria específica. Se puede observar al momento de la formación del halo de inhibición alrededor de la cepa (107).

Extracto acuoso: preparación en agua de la sustancia de una planta o un animal que contiene la porción biológicamente activa sin el residuo celular (108).

Extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada): es aquel que se obtiene luego de un proceso de fermentación artesanal del tubérculo (15).

Flavonoides: compuestos polifenólicos caracterizados por una estructura benzo- γ -pirano, los cuales están ampliamente distribuidos en el reino vegetal y se encuentran de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos y son importantes para su desarrollo y buen funcionamiento ya que actúan como atrayentes de animales en la oviposición, como agentes protectores contra la luz ultra violeta o contra la infección por organismos fitopatógenos; además, estos compuestos presentan propiedades relacionadas con la salud humana, lo cual está basado en su actividad antioxidante (109).

Glicoalcaloides: metabolitos secundarios en forma de glicósidos unidos a moléculas de azúcares (glucosa, galactosa y rhamnosa), presentes en las hojas, tallos, brotes y en menor concentración en los tubérculos, en ciertos niveles pueden ser tóxicos para bacterias, hongos, virus, insectos, en animales y seres humanos; puede actuar como anticancerígenos, antialérgicos, antipirético, antiinflamatorio y ayudar en la reducción del colesterol (110).

Halo 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, se mide la potencia del antibiótico frente al germen (111).

Metabolitos bioactivos: son aquellos compuestos que abarcan los metabolitos primarios los cuales están involucrados de forma directa en el crecimiento, desarrollo y reproducción de la planta (aminoácidos, carbohidratos, lípidos y

ácidos nucleicos) y metabolitos secundarios que son compuestos químicos sintetizados a partir del metabolismo primario (fenoles, terpenos y alcaloides) (112).

Papa fermentada: técnica de transformación de la papa mediante la cual se ha contribuido a la generación de varios derivados con fines alimenticios y posiblemente también curativo. La transformación de los nutrientes va ocurriendo mediante procesos de transformación que dentro de la papa va cambiando radicalmente por acción de la exposición a fuertes heladas (49), (58).

Quinona: son compuestos oxigenados que por sus características son dicetonas insaturadas, son producto de la oxidación de los fenoles, se encuentran en los seres vivos y son responsables de los colores en numerosos vegetales, de acuerdo al sistema aromático que adquieren cuando se reducen se clasifican en benzoquinonas, naftaquinonas, antraquinonas y fenatraquinonas (113).

Staphylococcus aureus: bacteria anaerobia facultativa, Gram positiva, productora de coagulasa, catalasa, inmóvil y no esporuladas con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm que posee características particulares de virulencia y resistencia a los antibióticos. En los humanos causa una amplia variedad de enfermedades infecciosas (91), (114).

Taninos: son compuestos fenólicos que poseen propiedades astringentes y antiinflamatorias, así como también capacidad antioxidante, tanto como captadores de radicales libres como quelantes de metales (106).

Tinción Gram: tinción diferencial, ya que utiliza dos colorantes y clasifica a las bacterias en dos grandes grupos: bacterias Gram negativas que son teñidas de rojo con safranina y bacterias Gram positivas que son teñidas color azul intenso

(purpura) con cristal-violeta (115).

Terpenoides: son una amplia clase de compuestos orgánicos de origen natural; también se conocen como isoprenoides. Son los principales componentes de la resina de las plantas y de los aceites esenciales extraídos de dichas plantas. Usados en alimentación, cosmética por su aroma, fragancia y en medicina por sus propiedades anticarcinogénicas, antiulcerosas, antimalariales y antimicrobianas (116), (117).

Vía del ácido malónico o ruta de los poliacetatos: es una fuente importante de fenoles en hongos y bacterias, pero es poco empleada en plantas superiores. Esta ruta se inicia con Acetil Coenzima A (AcCoA), dando origen a diferentes compuestos aromáticos, los que se agrupan como poliacetatos. Lo que ocurre en esta vía, es que luego de varias transformaciones del AcCoA se forma un poli- β -cetotioéster, el que se cicla para dar origen a diversos poliacetatos. Uno de estos compuestos corresponde a las quinonas, las que pueden describirse como sustancias oxigenadas producto de la oxidación de derivados aromáticos (103), (118).

Vía del ácido mevalónico o biosíntesis de terpenoides: los terpenoides se sintetizan a partir de metabolitos primarios mediante dos vías: La primera vía es la del ácido mevalónico, donde tres moléculas de acetil-CoA se condensan y forman ácido mevalónico, el que a su vez por varias reacciones forma isopentenil difosfato (IPP). La otra vía es la del metileritritol fosfato (MEP), el que se forma a partir de gliceraldehido-3-fosfato y piruvato. Los terpenoides están constituidos por una unidad básica conocida con el nombre de isopreno y su clasificación se realiza de acuerdo al número de unidades de isopreno que contienen: monoterpenoides (10C), sesquiterpenoides (15C), diterpenoides (20C), triterpenoides (30C), tetraterpenoides (40C), politerpenoides (más de 8 unidades de C₅H₈) (118).

Vía del ácido sikímico: se realiza a través del fosfoenolpiruvato y la eritrosa 4 fosfato que interacciona con el ciclo de los ácidos tricarbóxicos o ciclo de Krebs para dar aminoácidos aromáticos y aminoácidos alifáticos, que en definitiva generan dos familias de compuestos secundarios alcaloides y la biosíntesis de la mayoría de los compuestos fenólicos. Dentro de ésta vía se va a dar origen a compuestos aromáticos como lignina, fenoles y taninos, entre otros; por otro lado, de la combinación de la vía del ácido sikímico y de la del ácido malónico derivan compuestos fenólicos, donde los más importantes son los flavonoides (103), (118).

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación

El estudio por su naturaleza y alcance corresponde al tipo y diseño:

- Experimental , porque se contó con un grupo control positivo constituido por la cefalexina, un grupo control negativo representado por el Tween 80 y el agua destilada, y un grupo experimental representado por el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) y el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo). Cada grupo debidamente representado por discos de papel filtros embebidos con las diferentes sustancias. Además, fue realizado *In vitro*, debido a que la investigación se llevó a cabo en medios de cultivo que sirven para el desarrollo de las bacterias y se manipuló de manera intencional las condiciones de la investigación.
- Transversal, puesto que las variables fueron observadas en un solo momento después de transcurrir un corto período de tiempo con una aproximación de 72 horas, después de realizado el cultivo.
- Prospectivo, pues, la recolección de datos se realizó de acuerdo a la ocurrencia de los hechos.

3.2. Diseño de la investigación

El proceso de investigación que asumió el diseño experimental, se realizó en tres etapas:

Primera etapa: estudio piloto para elegir las muestras adecuadas (preparación de las concentraciones y preparación de la cepa).

Segunda etapa: determinar los principales metabolitos secundarios presente en las muestras.

Tercera etapa: determinar la sensibilidad antibacteriana de las muestras.

3.3. Población y muestra de la investigación

3.3.1. Población

Solanum tuberosum (papa fermentada), originario de Puno.

Thymus vulgaris (tomillo), originario de Arequipa.

3.3.2. Muestra

Solanum tuberosum (papa fermentada): 2.5g, 5g y 10g.

Aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) de laboratorio “Runcato E.I.R.L.”: (frasco por 20mL).

Grupo control positivo: cefalexina 30µg.

Grupo control negativo: agua destilada, Tween 80.

3.3.3. Muestreo

No probabilístico, porque la muestra es discrecional, no existiendo error muestral (No se conoce la posibilidad de inclusión).

3.3.4. Lugar de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ubicado en el Cercado de Lima, y en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega, ubicado en el distrito de Pueblo Libre, Lima.

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Técnica de recolección de datos 1:

Estudio piloto para elegir la muestra adecuada.

3.4.2. Descripción de instrumento1:

Primera etapa: estudio piloto para elegir las muestras adecuadas (preparación de las concentraciones y preparación de la cepa).

Procedimiento de la obtención del extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (papa fermentada): Tocosh

Se obtuvo 30 gramos de la muestra, la cual se trozó de forma manual se pesaron 3 cantidades diferentes en una balanza analítica para la obtención de 3 concentraciones distintas. Se les agregó agua destilada a cada muestra con agitación constante y se procedió a dejar 4 horas en baño maría a una temperatura de 67°C. Pasado ese tiempo el resultado se filtró 3 veces, utilizando papel filtro (Whatman N°1), obteniéndose un extracto purificado. La solución resultante fue guardado en refrigeración

a una T° entre 4 a 8 °C en frascos de vidrio color ámbar, hasta la realización del análisis microbiológico.

La preparación de las diferentes concentraciones de extracto acuoso se realizó, según la tabla N°11.

Tabla N°11: Concentraciones del Tocosh

<i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada): tocosh	Volumen de agua destilada	Volumen final	Concentración (%)
2.5 g	47.50 ml	50 ml	5 %
5 g	45.00 ml	50 ml	10 %
10 g	40.00 ml	50 ml	20 %

Fuente: elaborado por el propio investigador

Procedimiento de la obtención del extracto acuoso de Chuño blanco

Se obtuvo 30 gramos de la muestra, la cual se pulverizó de forma manual, se pesaron 3 cantidades diferentes en una balanza analítica para la obtención de 3 concentraciones distintas. Se les agregó agua destilada a cada muestra, dichas mezclas se agitaron hasta su disolución, dejándolos 4 horas en baño maría a una temperatura de 67°C. Pasado ese tiempo el resultado se filtró 3 veces, utilizando papel filtro (Whatman N°1), obteniéndose un extracto purificado. La solución resultante fue guardado en refrigeración a una T° entre 4 a 8 °C en

frascos de vidrio color ámbar, hasta la realización del análisis microbiológico.

La preparación de las diferentes concentraciones de extracto acuoso se realizó, según la tabla N°12.

Tabla N° 12. Concentraciones del Chuño Blanco

<i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada): Chuño blanco	Volumen de agua destilada	Volumen final	Concentración (%)
2.5 g	47.50 ml	50 ml	5 %
5 g	45.00 ml	50 ml	10 %
10 g	40.00 ml	50 ml	20 %

Fuente: elaborado por el propio del investigador

Procedimiento de la obtención del extracto acuoso de Chuño Negro

Se obtuvo 30 gramos de la muestra, la cual se pulverizó de forma manual, se pesaron 3 cantidades diferentes en una balanza analítica para la obtención de 3 concentraciones distintas. Se les agregó agua destilada a cada muestra, dichas mezclas se agitaron hasta su disolución, dejándolos 4 horas en baño maría a una temperatura de 67°C. Pasado ese tiempo el resultado se filtró 3 veces, utilizando papel filtro (Whatman N°1), obteniéndose un extracto purificado. La solución resultante fue guardado en refrigeración a una T° entre 4 a 8 °C en frascos de vidrio color ámbar, hasta la realización del análisis microbiológico.

La preparación de las diferentes concentraciones de extracto acuoso se realizó, según la tabla N°13.

Tabla N° 13: Concentraciones del Chuño Negro

<i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada): Chuño negro	Volumen del agua destilada	Volumen final	Concentración (%)
2.5 g	47.50 ml	50 ml	5 %
5 g	45.00 ml	50 ml	10 %
10 g	40.00 ml	50 ml	20 %

Fuente: elaborado por el propio investigador

Obtención del aceite esencial de tomillo.

El aceite esencial se solicitó en el laboratorio “Runcato E.I.R.L.” (Ver ANEXO N° 03) en la cual se utilizó el método de destilación por arrastre a vapor y fue entregado por el jefe destilador Julio Cesar Nieves Cervantes. Se prepararon en 3 concentraciones diferentes en una fiola de 5ml y se agregó tween 80 a cada muestra. Luego se colocó cada una de las concentraciones en frascos de vidrio de color ámbar estéril, para protegerlas de la luz, y fueron llevadas posteriormente a refrigeración entre 4 a 8 °C, hasta la realización del análisis microbiológico.

La preparación de las diferentes concentraciones del aceite esencial de tomillo están explicadas en la tabla N°14.

Tabla N° 14: Concentraciones del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo)

Volumen del aceite esencial	Volumen del Tween 80	Volumen final	Concentración (%)
2.5ml	2.5ml	5ml	50 %
3,5ml	1,5ml	5ml	70 %
4,5ml	0,5ml	5ml	90 %

Fuente: elaborado por el propio investigador

Obtención de la cepa

Las cepas utilizadas en el ensayo de actividad antimicrobiana corresponden a las American Type Culture Collection (ATCC), son de referencia internacional y forman parte de unas bacterias mínima de cepas que se emplean para estos estudios.

Staphylococcus aureus, con el código ATCC® 29213™ Lot 365 - 83 – 1 / 2017 - 11 0365P. Del instituto nacional de salud (INS). (Ver ANEXO N°7)

Preparación de la cepa

Una vez obtenida la cepa, se procedió a realizar un cultivo en medio específico agar manitol salado dejándola incubar a 37°C por 24 a 48 horas, luego de ese tiempo se observó crecimiento de colonias, las pruebas bioquímicas de confirmación complementarias que se realizaron fueron prueba de oxidasa y catalasa siendo las colonias de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivas y catalasa positivas. Del medio de cultivo aislado se tomaron colonias de *Staphylococcus aureus* que se suspendieron en solución salina fisiológica y se obtuvo una titulación hasta alcanzar una turbidez que se comparó con el tubo N° 0.5 del nefelómetro de Mac Farland equivalente a $1,5 \times 10^8$ UFC/ml. Esta comparación se llevó a cabo visualmente utilizando un fondo oscuro y una fuente de luz adecuada. El tubo conteniendo la bacteria fue girado entre las manos durante 30 segundos, antes de proceder al sembrado.

3.4.3. Validación de instrumento

Valor de CIM o el halo de inhibición del CLSI utilizados para indicar sensible, intermedio y resistente se definen para el antimicrobiano, según Tabla N°15 y escala Duraffourd, utilizada también para indicar sensibilidad Nula, Sensible, Muy sensible, Sumamente sensible para el antimicrobiana según la Tabla N°16.

Tabla Nº 15: Valor de CIM o halo de inhibición del CLSI para indicar sensibilidad

	CIM ($\mu\text{g/ml}$)	Halos de inhibición (mm)
Sensible	≤ 4	≥ 20
Intermedio	8-16	15-19
Resistente	≥ 32	≤ 14

Fuente: Malbrán CG. clinical and laboratory standards institute. (119)

Tabla Nº 16: Escala de Duraffourd para indicar sensibilidad antimicrobiana

Leyenda		Halos de inhibición (mm)
Nula	(-)	< 8
Sensible	(+)	8-14
Muy sensible	(++)	14-20
Sumamente sensible	(+++)	>20

Fuente: Duraffourd C, 1987. (120)

Primero: se realizó el estudio piloto con *Solanum tuberosum* (papa fermentada) para poner a prueba la viabilidad, el equipo y los métodos, con un ensayo a pequeña escala:

a) Extracto acuoso de tocosh: en seis placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se dividen en tres grupos de dos:

- Grupo 1: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de tocosh al 5 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
- Grupo 2: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de tocosh al 10 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
- Grupo 3: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de tocosh al 20 por ciento y disco de cefalexina 30µg.

b) Extracto acuoso de chuño blanco: en seis placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, separadas en tres grupos de dos:

- Grupo 1: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de chuño blanco al 5 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
- Grupo 2: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de chuño blanco al 10 por ciento y disco de cefalexina 30µg.

- Grupo 3: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de chuño blanco al 20 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
- c) Extracto acuoso chuño negro: en seis placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, separadas en tres grupos de dos:
- Grupo 1: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de chuño negro al 5 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
 - Grupo 2: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de chuño negro al 10 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
 - Grupo 3: se colocó en cada placa un disco embebido con extracto acuoso de chuño negro al 20 por ciento y disco de cefalexina 30µg.
- d) En dos placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se colocaron discos embebidos con agua destilada.

Después de 72 horas en estufa a T° 37C se procedió a dar la lectura de los resultados, indicados en la Tabla N°17.

Segundo: Se realizó el estudio piloto con *Thymus vulgaris* (tomillo) para poner a prueba la viabilidad, el equipo y los métodos, con un ensayo a pequeña escala:

- a) En dos placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se colocaron discos embebidos con tween 80.
- b) En dos placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se colocaron discos de cefalexina 30µg.
- c) En dos placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se colocaron discos embebidos con aceite esencial *Thymus vulgaris* al 50 por ciento.
- d) En dos placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se colocaron discos embebidos con aceite esencial *Thymus vulgaris* al 70 por ciento.
- e) En dos placas petri con medio agar Müller-Hinton sembradas con cepa de *Staphylococcus aureus* ATCC29213, se colocaron discos embebidos con aceite esencial *Thymus vulgaris* al 90 por ciento.

Después de 72 horas en estufa a T° 37C se procedió a dar la lectura de los resultados, indicados en la tabla N°18.

Después de realizado el estudio piloto se procedió a realizar la marcha fitoquímica y los estudios finales de la investigación eligiendo como muestras el extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada): Chuño negro al 5 por ciento y aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) al 90 por ciento.

3.4.3. Técnica de recolección de datos 2

Marcha fitoquímica para identificar los tipos de metabolitos presentes. (Ver en las tablas N° 19 y N° 20).

3.4.4. Descripción de instrumentos 2

Segunda etapa: Marcha fitoquímica

La marcha fitoquímica se realizó para determinar el tipo de metabolitos presentes en el extracto acuoso *Solanum tuberosum* (chuño negro) y en el aceite esencial del *Thymus vulgaris* (tomillo). Para lo cual se trabajó 5 g del extracto seco del chuño negro y 5ml de aceite esencial del tomillo los cuales se disolvieron con 5 ml de alcohol al 96°, en un tubo de prueba para realizar los respectivos ensayos:

1. **Determinación de taninos con gelatina:** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 2 gotas del reactivo de gelatina. La presencia de turbidez se consideró positiva.
2. **Determinación de aminoácidos con Ninhidrina:** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 2 gotas del reactivo de ninhidrina. La coloración violácea se consideró positiva.
3. **Determinación de compuestos fenólicos con Fe Cl₃ (tricloruro de hierro):** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 2 gotas de Fe Cl₃ (tricloruro de hierro). La presencia del precipitado rojo oscuro o marrón se consideró positivo.
4. **Determinación de alcaloides con Dragendorff:** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 2 gotas del reactivo de

Draggendorff. La presencia del precipitado rojo ladrillo se consideró positivo.

5. **Determinación de alcaloides con Mayer:** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 2 gotas del reactivo de Mayer. La presencia de precipitados blanco o amarillo se consideró positivo.
6. **Determinación de quinonas con NaOH:** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 2 gotas reactivo NaOH al 5 por ciento. La coloración naranja se consideró positiva.
7. **Determinación de carbohidratos con Molish:** se colocó en tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 1 gota del reactivo Molish sin agitar y ácido sulfúrico en zona. La formación de anillo rojo se consideró positivo.
8. **Determinación de flavonoides con Shinoda:** se colocó en tubo de ensayo 10 gotas del extracto con trocitos de magnesio metálico y ácido clorhídrico concentrado (HCl) en zona. La coloración roja o rosada se consideró positiva.
9. **Determinación de terpenoides y/o esteroides con Lieberman:** se colocó en un tubo de ensayo 10 gotas del extracto con 10 gotas de cloroformo, 3 gotas de anhídrido acético y 1-2 gotas de ácido sulfúrico en zona. La coloración rojo naranja se consideró positiva.

3.4.5. Técnica de recolección de datos 3

Método de difusión en disco para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. (Ver las tablas N° 21, N° 22 y N° 23).

3.4.6. Descripción del instrumento 3

Tercera etapa: Determinar la sensibilidad antibacteriana de las muestras por el método de difusión en disco.

Para la cepa *Staphylococcus aureus* se usó el agar Müller-Hinton. Se vertió 25 ml del agar en placas de 90mm sobre la superficie logrando una altura de $4 \pm 0,5$ mm. Se usó teniendo cuidado de que no existan gotas de agua en la superficie del agar. El inóculo se preparó suspendiendo una colonia en solución salina al 0.9 por ciento hasta que se logró una turbidez uniforme visible igual a la densidad correspondiente al 0,5 McFarland.

Inmediatamente se preparó el inóculo, se embebió la torunda de algodón para que no se extraiga exceso se presionó contra las paredes del tubo, se procedió a colocar en forma uniforme sobre la superficie en la totalidad de la placa aplicada en tres direcciones a una distancia de 10 cm de la llama del mechero.

Se continuó colocando dos discos por placa, el primero embebido con el extracto acuoso *Solanum tuberosum* (chuño negro) al 5 por ciento y el segundo con cefalexina 30µg. Se realizaron 5 repeticiones.

En el caso del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) al 90 por ciento, se colocó un disco por placa. Se realizaron 5 repeticiones.

Luego se incubaron las placas invertidas a una temperatura de 37°C por un tiempo de 48 horas después de aplicados los discos.

Posteriormente se midieron los halos de inhibición (susceptibilidad) de cada concentración con una regla vernier. Los resultados se compararon

con la escala de CLSI y Duraffourd y se determinó la sensibilidad o resistencia.

3.5 Técnicas para el procesamiento y análisis de datos

El procesamiento y análisis de datos se efectuó a través de estudios estadísticos en el uso de software SPSS versión 24 para Windows.

CAPÍTULO IV

PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Procesamiento de datos. Resultados

4.1.1. Primera etapa:

Para el estudio piloto se obtuvieron los resultados de las tablas N° 17 y N°18.

Tabla 17. Resultados microbiológicos del estudio piloto del *Solanum tuberosum* (papa fermentada)

Número de placas	Agua destilada	Tocosh 5% / cefalexina	Tocosh 10% / cefalexina	Tocosh 20% / cefalexina	Chuño blanco 5% / cefalexina	Chuño blanco 10% / cefalexina	Chuño blanco 20% / cefalexina	Chuño negro 5% / cefalexina	Chuño negro 10% / cefalexina	Chuño negro 20% / cefalexina
Placa1 medida de halo inhibitorio	0mm	0mm / 31mm	0mm / 31,5mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31,5mm	21mm / 31mm	0.5mm / 31,5mm	0mm / 31mm
Placa2 medida de halo inhibitorio	0mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm	20,5mm / 31mm	0mm / 31mm	0mm / 31mm

Fuente: elaborado por el propio investigador.

Tabla N° 18: Resultados microbiológicos del estudio piloto del aceite *Thymus vulgaris* (tomillo).

Número de placas	Tween 80	Cefalexina 30µg	Aceite esencial a 50%	Aceite esencial a 70%	Aceite esencial a 90%
Placa 1 medida de halo inhibitorio	0mm	31mm	3mm	8mm	16mm
Placa 2 medida de halo inhibitorio	0mm	30.5mm	3mm	9mm	15.5mm

Fuente: elaborado por el propio investigador.

4.1.2. Segunda etapa:

Para la Marcha fitoquímica se obtuvieron los resultados de las tablas N° 19 y N° 20.

Tabla N° 19: Resultados de la Marcha fitoquímica del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada)

ENSAYOS	METABOLITOS	Extracto acuoso <i>Solanum tuberosum</i>	
		Resultado	Observaciones
Gelatina	Taninos	+	Poca turbidez
Ninhidrina	Aminoácidos	+++	Violáceo
Fecl3	Compuestos fenólicos	+	Poca coloración
Dragendorf	Alcaloides	++	Rojo ladrillo
Mayer	Alcaloides	+	coloración amarillo
NaoH	Quinonas	-	ninguno
Molish	Carbohidratos	+	Poca formación de anillo rojo
Shinoda	Flavonoides	++	Poca coloración rosada

Leyenda: excelente (+++) buena (++) escasa (+) nula (-)

Fuente: elaborado por el propio investigador.

Tabla N° 20: Resultados de la Marcha Fitoquímica del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo)

ENSAYOS	METABOLITOS	Aceite esencial <i>Thymus vulgaris</i>	
		Resultado	Observaciones
Gelatina	Taninos	+++	Turbidez
Ninhidrina	Aminoácidos	-	Ninguno
Fecl3	Compuestos fenólicos	+++	Rojo oscuro
Dragendorff	Alcaloides	+	Poca coloración
Mayer	Alcaloides	-	Ninguno
NaOH	Quinonas	-	Ninguno
Molish	Carbohidratos	+	Poca formación de anillo rojo
Shinoda	Flavonoides	-	Ninguno
Lieberman buchard	terpenoides y/o esteroides	+++	Rojo-naranja

Leyenda: excelente (+++) buena (++) escasa (+) nula (-)

Fuente: elaborado por el propio investigador

4.1.3. Tercera etapa:

Para la determinación de la sensibilidad antibacteriana el resultado se indica en las tablas N° 21, 22 y 23.

Tabla N° 21: Resultados microbiológicos del grupo control

	Cefalexina	escala CLSI	escala Duraffourd
Placa 1	31,00mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 2	31,5mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 3	31,5mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 4	31,00mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 5	31,00mm	sensible	Sumamente sensible
Media	31.20mm±0.3	sensible	Sumamente sensible

Fuente: elaborado por el propio investigador.

Tabla N° 22: Resultados microbiológicos del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (chuño negro) al 5%

	Extracto acuoso	escala CLSI	escala Duraffourd
Placa 1	20,50 mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 2	21,00mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 3	21,00mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 4	21,00mm	sensible	Sumamente sensible
Placa 5	20,50mm	sensible	Sumamente sensible
Media	20,80mm±0.3	sensible	Sumamente sensible

Fuente: elaborado por el propio investigador.

Tabla N° 23: Resultados microbiológicos del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) al 90%

	Aceite esencial	escala CLSI	escala Duraffourd
Placa 1	15,50mm	intermedio	Muy sensible
Placa 2	16,00mm	Intermedio	Muy sensible
Placa 3	16,00mm	Intermedio	Muy sensible
Placa 4	15,50mm	Intermedio	Muy sensible
Placa 5	15,50mm	Intermedio	Muy sensible
Media	15,70mm±0.3	Intermedio	Muy sensible

Fuente: elaborado por el propio investigador.

4.2. Discusión de los resultados

Los resultados microbiológicos del estudio piloto del extracto acuoso del *Solanum tuberosum* (papa fermentada) obtenidos, según la tabla N° 17, expresan que el grupo control presentaron para el agua destilada, 0mm y cefalexina, 31 a 31,5mm halos de inhibición. Para el grupo de muestras del tocosh al 5, 10, 20 por ciento es de 0mm, del chuño blanco de 5, 10, 20 por ciento es de 0mm. En el caso del Chuño negro al 5 por ciento dio un halo de inhibición de 21mm. En el caso de 10 y 20 por ciento, por la dificultad en la filtración dio resultados de halos de inhibición, 0mm. Lo que demostró que la muestra indicada para el trabajo de investigación es el Chuño negro al 5 por ciento.

Los resultados microbiológicos del estudio piloto del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo), según la tabla N°18, expresan que el grupo control presentaron para el tween 80, 0mm y cefalexina, 31 a 31,5mm halos de inhibición. Para el grupo de muestras del aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) al 50 por ciento es de 3mm, al 70 por ciento es 8.5mm y al 90 por ciento de 18.5mm halos de inhibición. Lo que demostró que la muestra indicada para el trabajo de investigación es el aceite esencial del *Thymus vulgaris* (tomillo) al 90 por ciento.

Al analizar los resultados de los metabolitos bioactivos mediante una marcha fitoquímica del extracto acuoso del *Solanum tuberosum* como chuño negro, presentada en la tabla N°19. Se observa la presencia de aminoácidos, alcaloides y flavonoides (antocianinas) que podría ser explicado por la presencia de estos en plantas con condiciones de temperaturas extremas como es el congelamiento; también dio positivo en alcaloides explicable ya que se obtienen de los aminoácidos. Pudiéndose interpretar que el sabor amargo que obtiene, se debe a los metabolitos de estrés que segrega llamados Glicoalcaloides (GAT), los cuales son metabolitos secundarios constituidos por

glucósidos esteroidales (α - solanina y α -choconina) que son componentes fitopatógenos que defienden a la planta de hongos (28) y que según Clirisllansen (41) tiene efectos antibacterianos y antifúngicos. Como lo menciona Silva y colaboradores (28) cuando realizaron un estudio para el posible aprovechamiento de los glicoalcaloides de los residuos de papa en la aplicación de la desinfección del agua residual por su eficiencia en la reducción de bacterias.

El estudio de Sandoval M. et al. (17) en el análisis fitoquímico, hallaron aminoácidos libres, alcaloides, azúcares reductores, compuestos fenólicos, triterpenoides y esteroides, así como López Y. (13) indica la existencia de aminoácidos todo coincidente con lo hallado en la investigación, pero indica compuestos fenólicos que si bien fueron hallados estos fueron en pequeñas cantidades pudiendo ser explicado por el tipo de papa fermentada trabajada.

El estudio de Amanpour R. et al. (20) menciona que el extracto hidroalcohólico presenta efecto antibacteriano en Gram positivo como *Staphylococcus aureus* indicando que es debido a los compuestos fenólicos llamados flavonas y antocianinas.

Al analizar los resultados de los metabolitos bioactivos mediante una marcha fitoquímica del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) (tabla N°20), se observa la presencia de terpenoides, taninos y compuestos fenólicos.

Rojas M. et al. (24) demostraron la prevalencia de monoterpenoides, identificando al timol en 57 por ciento, el p-cimoneno en 14.7 por ciento y el g-terpineno en 14.1 por ciento y, además, evidenciaron un elevado efecto antibacteriano sobre *P. carotovorum subsp. Carotovorum*. En el estudio de Aguilar N. (16) se mencionó que el efecto antibacteriano del *Fusobacterium nucleatum* y *Enterococcus faecalis* son dados por el timol, así como también Meneses R. (18) que demuestra el efecto antibacteriano frente a *Streptococcus*

Mutans. Además, Coy C. et al. (26) encontraron 1-8-cineol al 21.5 por ciento y o-cimeno 17,9 por ciento que le atribuye el efecto antibacteriano frente a Gram positivos y negativos.

Los resultados que se muestran en la tabla N°21 indican que el grupo control cefalexina presenta 31.2 ± 0.3 mm halos de inhibición, lo que demostraría que su efecto antibacteriano frente al *Staphylococcus aureus* viene a ser una antibacteriano sensible según CLSI y sumamente sensible según Duraffourd.

Los resultados de la tabla N°22 expresan que el extracto acuoso del *Solanum tuberosum* como chuño negro al 5 por ciento presenta una media de $20,8 \pm 0.3$ mm, considerado como de actividad antibacteriana sensible, según CLSI y muy sensible, según la escala de Duraffourd, lo que nos permitió determinar que si bien el extracto acuoso al 5 por ciento del chuño negro es un antibacteriano sensible frente a *Staphylococcus aureus* no es tan sensible como la cefalexina. Se debe mencionar que sería explicable por ser una concentración muy baja y que no se puede trabajar con concentraciones más altas porque no permite su filtración. Lo que demuestra Pesante (15) que halló efecto antibacteriano con un 5 por ciento de extracto frente a cepas de *Escherichia coli* encontrando un efecto antibacteriano moderadamente sensible.

Los resultados de la tabla N°23 permite observar que el aceite esencial *Thymus vulgaris* al 90 por ciento presenta una media de 15.7 ± 0.3 mm halos de inhibición considerado como de actividad antibacteriana intermedia, según CLSI, y muy sensible, según la escala de Duraffourd. Lo que se demuestra en el estudio de Coy C. et al. (26) que identificaron metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de tomillo frente a las cepas de *Staphylococcus aureus* resulto ser el microorganismo más sensible.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

1. Se ha identificado en el extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (chuño negro) aminoácidos, alcaloides y flavonoides (antocianinas).
2. Se ha identificado en el aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) terpenoides, taninos y compuestos fenólicos.
3. Extracto acuoso de *Solanum tuberosum* (chuño negro) frente a cepas *Staphylococcus aureus* tiene actividad antibacteriana considerada como sensible según CLSI y sumamente sensible para Duraffourd.
4. El aceite esencial de *Thymus vulgaris* (tomillo) frente a cepas *Staphylococcus aureus* tiene actividad antibacteriana considerada como intermedia según CLSI y muy sensible para Duraffourd.

5.2. Recomendaciones

1. Se recomienda al Minsa tener como una alternativa económica el uso de plantas medicinales *Solanum tuberosum* (chuño negro) y *Thymus vulgaris* (tomillo) en pacientes de bajos recursos aplicando la medicina natural.
2. Se recomienda promover en hospitales, postas y redes de salud el uso de medicina alternativa natural.
3. Se recomienda a los profesionales de la salud prescribir como medicina alternativa tratamientos naturales reduciendo la posibilidad de resistencia bacteriana y efectos adversos.
4. Se recomienda realizar un estudio *in vivo* del efecto antibacteriano del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (chuño negro) y del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo) para determinar su efecto antibacteriano.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Luján C. Actividad antibacteriana de extractos vegetales en cepas hospitalarias de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple [Tesis] para obtener el grado de doctor en Ciencias Agropecuarias: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2006.
2. Guerra L. Evaluación de la actividad antimicrobiana y antioxidante de aceites esenciales de plantas usadas en medicina tradicional [tesis] para optar el Grado de maestría en ciencias con orientación terminal en Química Biomédica: Universidad Autónoma de Nuevo León; septiembre, 2011.
3. Maguiña Vargas C. Infecciones nosocomiales. Rev. SciELO - Acta Médica Peruana. 2016 Setiembre; 33(3).
4. Mensa J, Soriano A, Llinares P, Barberán J, Montejo M, Salavert M, et al. Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. Rev Esp Quimioter. 2013; 26(1): p. 1-84.
5. Barrios López M. características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de la infección por *staphylococcus aureus* adquirido en la comunidad en pediatría [Tesis de titulación]. Madrid: Universidad Complutense de Madrid, departamento de pediatría; 2012. p.201.
6. Vásquez Lezcano S. Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas - Automedicación en el Perú. [Online].; 2008 [cited 2017 setiembre 15. Available from:http://www.digemid.minsa.gob.pe/upload/uploaded/pdf/automedicacion_junio_2008.pdf.

7. Oblitas G, Hernández-Córdova G, Chiclla A, Antich-Barrientos M, Ccorihuamán-Cusitito L, Romaní. Empleo de plantas medicinales en usuarios de dos hospitales referenciales del Cusco, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica* [online]. 2013 Enero; 30(1).
8. Organización Mundial de la Salud de Ginebra (OMS). Estrategias de la OMS sobre medicina Tradicional. [Online].; 2000 - 2005 [cited 2017 06 07. Available from: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s2299s/s2299s.pdf>.
9. Gilt HL, Ramírez HIS. Estudio para la instalación de una planta productora de mazamorra de tocosh con maca, quinua y leche. *Ingeniería Industrial* 2013, 115-140.
10. Vegas S, Hernán M, et al. Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* papa en la mucosa gástrica de animales de experimentación. *Anales de la Facultad de Medicina*. Vol. 76. No. 1. UNMSM. Facultad de Medicina, 2015.
11. Ponce RAL et al. Tratamiento regenerativo de la mucosa gástrica con la mazamorra de tocosh de papa, en animales de experimentación. *Theorema*. 2016, Vol. 3, N° 4, pp. 91-97.
12. Hernández-Salazar A, Carbajal-Pruneda P, Fernández R, Arenas R. Dermatofitosis por *trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la ciudad de México. *Rev. Iberoamericana de Micología*. 2007 febrero 16; 24: p. 122-124.
13. López YY. Efecto inhibitorio *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) comparado con vancomicina y oxacilina sobre cepas de *Staphylococcus aureus* [tesis de titulación]. Trujillo: universidad privada Antenor Orrego facultad de medicina humana; 2017. p. 60.

14. Vidaurre Carlos JM, Tello Jiménez FE. Extracción, caracterización y evaluación del efecto antimicrobiano a diferentes concentraciones del aceite esencial de tomillo (*Thymus vulgaris*) en carne de pollo deshuesada almacenada en refrigeración [tesis] para optar el título de ingeniero de industrias alimentarias Lambayeque-Perú; 2016.
15. Pesantes P. Efecto antibacteriano *in vitro* de *Solanum tuberosum* (papa fermentada) en cepas de *Escherichia coli* comparado con gentamicina y ceftriaxona [Tesis]. Trujillo – Perú: Universidad privada Antenor Orrego. Facultad de medicina; 2015.
16. Aguilar Cuellar NDC. Actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial de *Thymus Vulgaris* "tomillo" sobre bacterias prevalentes en patologías de origen endodóntico. [tesis] para optar el título de especialista en Cariología y Endodoncia Lima -Perú ; 2015.
17. Sandoval-Vegas MH, *et al.* Efecto antioxidante y citoprotector del tocosh de *Solanum tuberosum* papa en la mucosa gástrica de animales de experimentación. En Anales de la Facultad de Medicina. UNMSM. Facultad de Medicina, 2015. p. 15-20.
18. Meneses RE. Efecto antiséptico de un enjuague bucal, formulado con el aceite esencial *Thymus vulgaris* L. "Tomillo", frente al *Streptococcus Mutans* ATC 25175 [Tesis] para optar el título profesional de Químico Farmacéutico Huacho: Universidad Alas Peruanas; 2015.
19. Soto Vásquez MR. Actividad antinociceptiva y antibacteriana de los alcaloides totales de dos especies de la familia Solanaceae. SciELO. 2014 Octubre - Diciembre.; 19(4).

20. Rojas J, Palacios O. Evaluación del efecto anti-*Trypanosoma cruzi* del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L (tomillo) y su principal componente, timol, en ratones. *Anales de la facultad de medicina*. 2012; p.24.
21. Panchi Medina LF. Efecto Antimicrobiano de los extractos de las hojas de Tomillo (*Thymus vulgaris*) y de las pepas de ajo (*Allium sativum*) sobre las cepas de *Enterococcus faecalis*. estudio *in vitro*. [tesis] para obtención del título de Odontóloga. Quito: Universidad Central del Ecuador; 2016.
22. Amanpour R, Abbasi Maleki S, Neyriz Naghadehi M, Asadi Samani M. Antibacterial effects of *Solanum tuberosum* peel ethanol extract *in vitro*. *Journal of HerbMed Pharmacology*. 2015 abril; 4(2): p. 45-48.
23. Matiz Melo GE, León Méndez G, Osorio Fortich MdR. Actividad antibacteriana in vitro de diecinueve aceites esenciales frente a bacterias asociadas al acné. *Rev. Cubana de Farmacia*. 2015 Marzo; 49(1): p. 103-116.
24. Rojas Fernández M, Corzo López M, Sánchez Pérez Y, Brito D, Montes de Oca R, Martínez, et al. Actividad antibacteriana de aceites esenciales sobre *pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum*. *Rev. Protección vegetal*. 2014 diciembre; 29(3): p. 197-203.
25. Kim JY, Gopal R, Kim SY, Seo CH, Lee HB, Cheong H, et al. PG-2, a Potent AMP against Pathogenic Microbial Strains, from Potato (*Solanum tuberosum* L cv. Gogu Valley) Tubers Not Cytotoxic against Human Cells. *Int. J. Mol. Sci*. 2013 January- February ; 14(2): p. 4349 - 4360
26. Coy Barrera CA, Eunice Acosta G. Actividad antibacteriana y determinación de la composición química de los aceites esenciales de romero (*Rosmarinus officinalis*), tomillo (*Thymus vulgaris*) y cúrcuma (*Curcuma longa*) de Colombia. *Rev. Cubana de Plantas Medicinales*. 2013 Junio; 18(2): p. 237-246.

27. Casco J.P. "Evaluación de la actividad gastroprotectora del extracto crudo de papa (*Solanum tuberosum*) en úlceras de estómago inducidas con etanol en ratas (*rattus norvegicus*)". [tesis]. Riobamba: escuela superior politécnica de Chimborazo facultad de ciencias escuela de bioquímica y farmacia; 2011. p.106.
28. Silva Beltrán NP, Ruiz Cruz S, López Mata MA, Cira Chávez LA, Gortarez Moroyoqui P. Componentes Bioactivos de residuos de papa: Un recurso para la desinfección de aguas. Ide@s Concyteg(Revista colombiana de CQF). 2011 Mayo; 6(71): p. 561 - 570.
29. Bontempo P, Carafa V, Grassi R, Basile A, Tenore G, Formisano C, et al. Antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative activities of *Solanum tuberosum* L. var. *Vitelotte*. Food and Chemical Toxicology. 2013 Mayo; 55: p. 304-312.
30. Congreso de la República. Ley Orgánica para el aprovechamiento Sostenible de los Recursos Naturales. [Online]; 1997 [cited 2017 06 07. Available from: http://www.ana.gob.pe/media/95192/ley_26821.pdf.
31. El peruano. Normas Legales. [Online]; 2009 [cited 2017 07 07. Available from: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Ley29459.pdf>.
32. Universidad Mayor de San Marcos (UNMSM). Ley de Plantas Medicinales Peruanas. Revistas UNMSM. 1997 -1998 9 - 3; I (11).
33. Congreso De la República. Ley de Aprovechamiento sostenible de plantas Medicinales. [Online]; 1999. [Cited 2017 07 07. Available from: <http://www4.congreso.gob.pe/comisiones/1999/ambiente/ley27300.htm>.
34. 56ª Asamblea Mundial de la Salud. Medicina tradicional. [Online]; 2003 [cited 2017 07 07. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/80225/1/sa56r31.pdf>.

35. Cárdenas Nuñez GJR. La papa como ventaja competitiva. Revistas de investigación UNMSM. 2009;(N. 12): p. 55-78.
36. Peruecologico.com. la papa y la alimentación mundial. [Online]. [cited 2016 11 01]. Available from: http://www.peruecologico.com.pe/tub_papa.htm.
37. Segura B. Cadena de valor de papas nativas (*Solanum andigenum sp*) en la provincia de Jauja, Perú. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 2014.
38. INEI. Producción de papa creció 45%. [Online].; 2014 [cited 2016 11 09]. Available from: <https://www.inei.gob.pe/prensa/noticias/produccion-de-papa-crecio-45-7582/>.
39. Cortez, M.R; Hurtado, G. 2002. Guía Técnica: Cultivo de papa. Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y forestal (CENTA). El Salvador.
40. Egúsqüiza BR. La papa en el Perú. [Online].; 2008 [cited 2017 05 27]. Available from: http://www.psi.gob.pe/wpcontent/uploads/2016/03/biblioteca_exposiciones_Papa_En_EL_Peru.pdf.
41. Estrada N; Vallenas M. La papa amarga. 1st ed. Rea J, Vacher JJ, editors. La Paz - Bolivia: ORSTOM; 1992.
42. Centro Internacional de la Papa (CIP), y la Federación departamental de Comunidades Campesinas (FEDECH). Catálogo de Variedades de papa nativa de Huancavelica- Perú. Salazar. RNYd, editor. Huancavelica- Perú: Metrocolor; 2006.
43. Torres Matta MDR. El Perú como papa. [Online].; 2011 [cited 2016 11 02]. Available from: <http://zhiotm.blogspot.pe/2011/04/la-papa-taxonomia-y-nombres-comunes.html>.

44. García IA. Evaluación de rendimiento en 5 variedades de papa (*Solanum tuberosum* L.) con fertilización a base de lombricomposta bajo condiciones de invernadero [tesis de titulación]. Saltillo, Coahuila: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro; 2016. p. 37.
45. Segura B. Cadena de valor de papas nativas (*Solanum andigenum* sp) en la provincia de Jauja, Perú. Tesis Doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. 2014.
46. Huaman Z, Spooner DM. Reclassification of landrace populations of cultivated potatoes (*Solanum* sect. *petota*). *American Journal of botany*. 2002; 6(89): p. 947–965.
47. Luyando Joo PK. Fitoterapia en enfermedades gastrointestinales. Diapositivas. Universidad Privada San Juan Bautista, Lima; 2007.
48. INS. Tablas peruanas de composición de alimentos. [Online].; 2009 [cited 2017 01 17. Available from: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>.
49. Muñoz Cervera M. El chuño andino o papa milenaria: un tubérculo con futuro. [Online].; 2014 [cited 2017 01 20. Available from: <http://consejonutricion.wordpress.com/2014/03/22/el-chuno-andino-o-papa-milenaria-un-tuberculo-con-futuro/>.
50. Fonseca C, Huarachi E, Chura W, Cotrado G. Guía de las Buenas Prácticas de Procesamiento para la producción artesanal de tunta (Año Internacional de la Papa). Center. IP, editor. Cuzco del Río Llave, Puno: Solaris Perú; 2008
51. Manrique K, Fonseca C. Chuño blanco, 'tunta' o 'moraya': un proceso natural de conservación. *Leisa Revista de Agroecología*. 2017 junio; 20(3).

52. Diario Perú primero. Salud - Diario Perú primero - blogger. [Online]; 2014 [cited 2017 02 17. Available from: <http://diarioperuprimerohuacho.blogspot.pe/2014/02/salud.html>.
53. Madigan, M. T., Martinko, J. M., Parker, J. Brock Biología de los microorganismos. 10ª ed. Madrid: Prentice - Hall; 2010.
54. Soto Vásquez M, Ruesta Trujillo J, Merejildo Baca R. Capacidad antioxidante in vitro de cuatro variedades de tubérculos de *solanum tuberosum L.* "Papa" (cruda y cocida, con y sin cáscara) frente al 2, 2-Difenil-1-picrilhidrazil. Revista Farmaciencia. 2014 Mayo; 2(1).
55. Bianeth Peña C, Restrepo LP. Compuestos fenólicos y carotenoides en la papa: revisión. Programa de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Interfacultades, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá-Colombia. 2013 marzo; 14(1).
56. FAO. Año Internacional de la papa. [Online].; 2008 [cited 2017 06 01. Available from: <http://www.fao.org/potato-2008/es/lapapa/IYP-3es.pdf>.
57. Florez Cruz DJ. Procesamiento de productos agropecuarios andinos. Curso. Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac, Apurímac; 2013.
58. Oropeza A. Diagnóstico de la elaboración y transformación del chuño y sus connotaciones socioculturales y económicas [tesis de titulación]. Cochabamba: Universidad Mayor de San Simón facultad de Ciencias Agrícolas y pecuarias; 2008.
59. Fundación Universitaria Iberoamericana Funiber. Composición Nutricional de la papa Chuño negro. [Online]; 2017 [cited 2017 05 01. Available from: <http://www.composicionnutricional.com/alimentos/PAPA-CHUNO-NEGRO-4>.

60. Solís-Campoverde PN. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de orégano (*Origanum vulgare* L.) y tomillo (*Thymus vulgaris* L.) como potenciales bioconservadores en carne de pollo. [Tesis]. Para la obtención del título de Bioquímico Farmacéutico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba – Ecuador 2011.
61. Lagos-La Rosa ER. Determinación de la actividad antibacteriana *in vitro* del aceite esencial *Thymus vulgaris* L. “tomillo” frente a *porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 causante de gingivitis. [Tesis]. Título Profesional de Químico Farmacéutico. Tacna – Perú. Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann. 2012.
62. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Hojas Divulgadoras - El Tomillo: Aprovechamiento y cultivo. [Online]; 1985 [cited 2017 06 06. Available from: http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/hojas/hd_1985_17.pdf.
63. Inlago-Guasgua MI. Determinación de la actividad antimicótica *in vitro* del extracto de tomillo (*Thymus vulgaris*) en comparación con la nistatina y el gluconato de clorhexidina al 0,2% sobre cepas de *Cándida albicans*. [Tesis] para la obtención del título de odontólogo .Quito-Ecuador. Universidad Central del Ecuador; 2014.
64. Lee S, Umamo K, Shibamoto T, Lee K. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves 79 (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. Food Chemistry, 91, 131-137, 2005.
65. Cañigueral-Folcará S. Vanaclocha-Vanaclocha B. Usos terapéuticos del tomillo. Revista de fitoterapia 2000; I; 5-13.

66. Rovetto G, Moreno N, Bolívar V, Calvo S, Suárez G, Justiniano C, Cindy J, Parede E, Caballero O. Aplicaciones medicinales del tomillo. Univ. Cienc. Soc. V.1 N° 2 Santa Cruz de la Sierra 2010.
67. Martínez A. Aceites esenciales. [En línea]. Consultado el 19/11/2016. Disponible en <http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>.
68. Mérida-Reyes MS. Estudio del rendimiento y composición del aceite esencial de diferentes poblaciones silvestres de *Lippia chiapasensis* Loes del altiplano occidental guatemalteco. [Tesis] para optar al título de Biólogo. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala; 2012.
69. Cañigueral S, Vila R. Los aceites esenciales en fitoterapia. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2007, vol. 6, núm. 5, p. 146.
70. Flores MC. Investigación de los aceites esenciales, sus características y finalidad de uso [Tesis] para optar al título Químico Farmacéutico .Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2010.
71. Stashenko EE. Aceites esenciales. Primera ed6. Bucaramanga - Santander: División de Publicaciones UIS; 2009.
72. Marques-Camarena Manuel. Composición química de los aceites esenciales de Lavanda y Tomillo. Determinación de la actividad anti fúngica. [Tesis]. Bachiller en Ingeniería agronómica y del medio rural. Universitat Politècnica de Valencia Escola Tècnica Superior D'Enginyeria Agronòmica I Del Medi Natural; 2015.
73. Jorge A. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. Primera Edición. Argentina.2004. pp 928-230, 1037-1041. ISBN 9789509030466

74. Deplantasmedicinales.net. Plantas medicinales. Consultado el 12/01/2017
Disponibile en <http://deplantasmedicinales.net/el-timol-y-el-tomillo/>.
75. Nostro, A., & Papalia, T. Antimicrobial activity of carvacrol: Current progress and future prospective. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7(1), 28–35, 2012.
76. Barnard, D.R., and Xue, R. Laboratory evaluation of mosquito repellents against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae), *J. Med. Entomol.* 41(4):726-730, 2004.
77. Aizpurua-Olaizola O, Soydaner U, Öztürk† E, Schibano D, Simsir Y, Navarro P, Etxebarria N, Usobiaga A. Evolution of the Cannabinoid and Terpene Content during the Growth of *Cannabis sativa* Plants from Different Chemotypes. *J. Nat. Prod.*, 2016, 79 (2), pp 324–331.
78. Yao SS, Guo WF, Lu Y, Jiang YX. Flavor characteristics of lapsang souchong and smoked lapsang souchong, a special Chinese black tea with pine smoking process. *J Agric Food Chem.* 2005 Nov 2; 53(22):8688-93.
79. Ministerio de empleo y seguridad social. P-Cimeno. Consultado el 12/01/2017
Disponibile en <http://desengrase.insht.es:86/sustancias/p-cimeno.html>.
80. Perina FJ, et al. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol against *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler: effects on growth, viability, early infection and cellular mode of action. *Pest management science*, 2015, vol. 71, no 10, p. 1371-1378.
81. López-Luengo MT. Tomillo. Consultado el 12/01/2017 Disponibile en <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13083626-S300>.
82. Universidad Nacional Autónoma de México. Departamento de Microbiología y Parasitología - Recursos en bacteriología. Generalidades De Bacterias - Recursos en bacteriología. [Online].; 2015 [cited 2017 03 01. Available from:

<http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/generalidades.html>.

83. Universidad Nacional del Nordeste. La pared bacteriana - Hipertextos del área de la biología. [Online]; 2005 [cited 2017 03 02. Available from: <http://www.biologia.edu.ar/bacterias/micro4.htm>.
84. OK diario. Las Bacterias Gram positivas. [Online]; 2017 [cited 2017 03 15. Available from: <https://okdiario.com/curiosidades/2017/01/26/bacterias-gram-positivas-697551>.
85. Quispe Pari GD, Hilari Castillo L. Cocos Gram positivos. Revista de Actualización Clínica Investiga. 2014 Nov; 49.
86. Mollinedo Patzi MA, Gonzáles Villalobos C. Bacterias Gram negativas. Revista de Actualización Clínica Investiga. 2014 noviembre; 49.
87. Universidad de la República Facultad de Medicina Departamento de Bacteriología y Virología Instituto de Higiene. Género *Staphylococcus*. In V S. Temas de bacteriología y virología médica. 2da ed. Montevideo: oficina del libro Fefmur; 2006. p. 257 - 271.
88. Velázquez Meza ME. Surgimiento y diseminación de *Staphylococcus aureus* meticilinorresistente. SciELO. 2005 Octubre; 47(5).
89. Boderó MV. Estudio Farmacognóstico y actividad antimicrobiana (*in vitro*) de los Extractos fluidos de Arrayán Y Pumín Y su aplicación en una pasta dentífrica [Tesis de titulación]. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia; 2010.152p.

90. Cervantes García E, García González R, Salazar Schettino PM. Características generales del *Staphylococcus aureus*. Revista latinoamericana de Patología clínica y Medicina de Laboratorio. 2014 enero; 61(1).
91. FoodSafety.gov. *Staphylococcus*. [Online]; 1999 [cited 2017 abril 05. Available from: <https://espanol.foodsafety.gov/intoxicaci%C3%B3n/causas/bacteriasvirus/staphylococcus/xmd/%C3%ADndice.html>.
92. Pahissa Berga A. Infecciones producidas por *Staphylococcus aureus*. 1st ed. BOOKS M, editor. Barcelona (España): ICG Mrage, SL; 2009.
93. Galiana Villar Á. Infección por *Staphylococcus aureus* meticilino resistente adquirido en la comunidad. SciELO. 2003 Marzo; 74(1).
94. Organización Panamericana de la Salud. Diagnóstico e investigación epidemiológica de las enfermedades transmitidas por alimentos. [Online].; 2001 [cited 2017 abril 29. Available from: <http://publicaciones.ops.org.ar/publicaciones/publicaciones%20virtuales/libroetas/modulo2/modulo2n.html>.
95. Zendejas Manzo GS, Avalos Flores H, Soto Padilla MY. Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomed - Universidad de la Ciénega del Estado de Michoacán de Ocampo, México. 2014 septiembre - diciembre ; 25(3).
96. Mendoza Ticona C, Ballón Echegaray J, De Los Ríos Alvarez JJ, Velásquez Talavera R. *Staphylococcus aureus* Meticilino Resistente (MRSA): Colonización y susceptibilidad en pacientes y personal de salud de un hospital de referencia. Infectólogo-Pediatra. Hospital Regional Honorio Delgado de Arequipa. Cátedra de Pediatría Universidad Católica de Santa María. 2001 junio; 40(3).

97. Vademecum. [Online]; 2013 [cited 2017 Mayo 15. Available from: <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c029.htm>.
98. Infomed. Red de salud de Cuba. [Online]. [Cited 2017 Mayo 18. Available from: http://www.sld.cu/servicios/medicamentos/medicamentos_list.php?id=166
99. Descriptores de la ciencia de la salud [internet]. Sao paulo: Biblioteca virtual de salud. [Online].; 2003 [cited 2017 01 01. Available from: <http://decs.bvs.br/cgi-bin/wxis1660.exe/decserver/>.
100. Méndez Á. Alcaloides - La Guía de Química. [Online]; 2010 [cited 2017 07 10. Available from: <http://quimica.laguia2000.com/propiedades/alcaloides>.
101. Noa Rayme J. funciones de 20 aminoácidos en las plantas. Monografía. Universidad San Luis Gonzaga de ICA., Ica; 2014.
102. Águila A. telmeds. [Online]; 2016 [cited 2017 02 28 [Facultad de Medicina. Universidad de Panamá]. Available from: <http://www.telmeds.org/wp-content/uploads/2016/11/Antibiograma.pdf>
103. Avalos García A, Pérez- Urría Carril E. metabolismo secundario de plantas. Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal. 2009 Noviembre; 2(3).
104. Patrick M, Ken R, Michael P. Morfología, síntesis y estructura de la pared celular de las bacterias. In Mosby E, editor. Microbiología médica. 5ta ed. Madrid – España: Gea consultoría, 2006. p.11-13.
105. Química toda es químico. [Online]; 2012 [cited 2017 Febrero 26. Available from: <https://iquimicas.com/que-es-una-cepa-bacteriana/>.
106. Gimeno Creus E. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. Revista Offarm. 2004 junio; 23(6).

107. Mayta F, Sacsquispe S. Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del extracto etanólico de Propóleo de Oxapampa – Perú sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). Rev. Estomatol Herediana. 2010, 20(1): p. 19 – 24.
108. Machacca F. Efecto Toxicológico del Jincho Jincho (*Heracium neoherrerae*), Altamisa (*Ambrosia arborescens*), Diente de león (*Taraxacum officinale*), Huir Huir (*Pseudogmaphalium spicatum*) y Mishico (*Bidens andicola*) en ratas (*Wistar*). [Tesis]. Puno: Universidad nacional del altiplano. facultad de ciencias biológicas; 2014.
109. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características químicas y aplicaciones Cultivos Tropicales. Sistema de Información Científica Redalyc, Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal. 2001; 22(2): p. 5-1.
110. Villacrés E, Peña W, Cuesta X, Espín N. INIAP - Efecto del Procesamiento sobre el contenido de los Glicoalcaloides de las papas nativas. [Online]; 2010 [cited 2017 07 10. Available from: https://cipotato.org/wp-content/uploads/Papanat%202010/8.%20Villacres_glicoalcaloides.pdf.
111. Ramos FM. Microbiología: Halos de inhibición. [Online]; 2014 [cited 20170128. Available from: <http://microbiologia3bequipo5.blogspot.pe/2014/10/halos-de-inhibicion.html>.
112. Reyes Vaquero L. Identificación de metabolitos de *Bougainvillea glabra* choise variedad variagueta y su efecto contra *spodoptera frugiperda* J.E. Smith Yautepec de Zaragoza, Morelos; 2015.
113. Edna R, Sánchez T, Usma J. N. Modelo didáctico para el Reconocimiento de Núcleos de Quinonas en productos Naturales. Modelo

didáctico. Colombia: Universidad del Tolima Campus Universitario de Santa Elena., villeta, cundimarca; 2014.

114. Bustos Martínez JA, Hamdan Partida A, Gutiérrez Cárdenas M. Staphylococcus aureus: la reemergencia de un patógeno. Rev. Biomed. 2006; 17(4).
115. López Jácome LE, Hernández Durán M, Colín Castro CA, Ortega Peña S, Cerón Gonzales G, Franco Cendejas R. las tinciones básicas en el laboratorio. Investigaciones en discapacidad. 2014 enero-Marzo; 3(1).
116. Seshata S. Las propiedades medicinales de los terpenos y de los terpenoides. [Online]; 2014 [cited 2017 julio 6. Available from: <https://sensiseeds.com/es/blog/las-propiedades-medicinales-de-los-terpenos-y-de-los-terpenoides/>.
117. Ávalos García A, Pérez-Urria Carril. Metabolismo secundario de plantas. Rev. Reduca (Biología). 2009; 2(3): p. 119-145.
118. Valencia Galindo EA. "Validación y actualización del uso de plantas medicinales presentes en la selva valdiviana" Tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Valdivia- Chile; 2013.
119. Malbrán CG. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por dilución. clinical and laboratory standards institute. 2012 january; 32(2).
120. Duraffourd C, D`Hervicourt, L Lapraz J. Cuaderno de Fitoterapia Clínica. Barcelona: Masson, 1987.

ANEXOS

ANEXO 01. Matriz de consistencia

TITULO: “ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ACUOSO *Solanum tuberosum* (papa fermentada) Y ACEITE ESENCIAL *Thymus vulgaris* (tomillo), FRENTE A CEPA *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO *in vitro*”.

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	METODOLOGIA
<p>GENERAL:</p> <p>¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) y del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) frente a cepa <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>¿El extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) tendrá metabolitos bioactivos?</p> <p>¿El aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) tendrá metabolitos bioactivos?</p> <p>¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de</p>	<p>GENERAL:</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) y del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) frente a cepa <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>Identificar tipos de metabolitos bioactivos presentes en el extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada).</p> <p>Identificar tipos de metabolitos bioactivos presentes en el aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo).</p> <p>Determinar la actividad</p>	<p>GENERAL:</p> <p>La actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) y del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i> es alta.</p> <p>ESPECÍFICOS:</p> <p>El extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) posee metabolitos bioactivos.</p> <p>El aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) posee metabolitos bioactivos.</p> <p>El extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada)</p>	<p>VI:</p> <p>Extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada).</p> <p>Aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo).</p> <p>VD:</p> <p>Efecto antibacteriano <i>in vitro</i>.</p> <p>UA:</p> <p>Cepas <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 29213.</p>	<p>VI:</p> <p>Metabolitos bioactivos</p> <p>Metabolitos bioactivos</p> <p>VD:</p> <p>Longitud del halo inhibitorio.</p>	<p>VI:</p> <p>Aminoácidos alcaloides</p> <p>Terpenoides, taninos y compuestos fenólicos</p> <p>VD:</p> <p>Diámetro del halo de inhibición según las pautas de Duraffourd. y CLSI</p>	<p>Método:</p> <p>Observacional.</p> <p>Diseño:</p> <p>Se realizó en 3 etapas: 1º Estudio piloto 2º identificación de los metabolitos bioactivos. 3º determinación de sensibilidad antibacteriana.</p> <p>Tipo:</p> <p>Experimental Transversal Prospectivo.</p> <p>Nivel:</p> <p>Básico.</p> <p>Población y muestra:</p> <p><i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) de Puno. <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) de Arequipa</p> <p>Muestra:</p> <p><i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada): 25g, 5g, 10g.</p>

<p><i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i>?</p> <p>¿Cuál es la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i>?</p>	<p>antibacteriana <i>in vitro</i> del extracto acuoso de <i>Solanum tuberosum</i> (papa fermentada) frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Determinar la actividad antibacteriana <i>in vitro</i> del aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>	<p>presenta alta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>El aceite esencial de <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) presenta alta actividad antibacteriana <i>in vitro</i> frente a cepas <i>Staphylococcus aureus</i>.</p>				<p>Aceite esencial <i>Thymus vulgaris</i> (tomillo) de laboratorio "Runcato E.I.R.L." (frasco por 20 mL).</p> <p>Grupo control: cefalexina 30ug Grupo negativo: agua destilada, tween 80.</p> <p>Técnica e Instrumento de recolección de datos</p> <p>Técnica: Marcha Fitoquímica. Método de difusión en disco.</p> <p>Instrumento: Identificación de los metabolitos bioactivos. Estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos.</p> <p>Procesamiento y análisis: Se medirá con una regla o vernier los halos de inhibición en las placas Petri.</p>
---	---	--	--	--	--	---

ANEXO 02. Certificado *Thymus vulgaris* (tomillo)

Runcato E.I.R.L.



CERTIFICADO

Por medio de la presente tenemos a bien certificar que el producto aceite esencial de Tomillo (*Thymus vulgaris*), con su principal componente Timol 35 - 50% es 100% puro, producido utilizando el metodo de destilación por arrastre al vapor.

Este certificado es emitido a solicitud de la Srta. Yisse Mamani Uchasara .

Se extiende este documento a solicitud de la interesada, para los fines que estime conveniente

Atentamente:

Julio Nieves

Destilador Jefe

Lima 22 de Febrero del 2017

 **Runcato E.I.R.L.**

JULIO CESAR NIEVES CERVANTES
TITULAR - GERENTE

Jirón Medina323, La Punta - Callao - Perú
Fax : 511 429 7058, Phone: 511 4653018, Mobile : 511 99394 2973
RUC: 20510966148 E-mail: info@runcato.com / www.runcato.com
www.etnotienda.com

“ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ACUOSO *Solanum tuberosum* (papa fermentada) Y ACEITE ESENCIAL *Thymus vulgaris* (tomillo), FRENTE A CEPA *Staphylococcus aureus*, ESTUDIO *in vitro*”

ANEXO 03. Fotos tomadas de la realización del Marcha Fitoquímica.



Foto N°1. Reactivos utilizados.



Foto N°2. Aplicación de los reactivos a la muestra del *Solanum tuberosum* (papa fermentada).



Foto N°3. Aplicación de los reactivos a la muestra del *Thymus vulgaris* (tomillo).



Foto N°4. Ensayo del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada).



Foto N°5. Ensayo del aceite esencial *thymus vulgaris* (tomillo).

ANEXO 04. Fotos de los resultados del Marcha Fitoquímica.

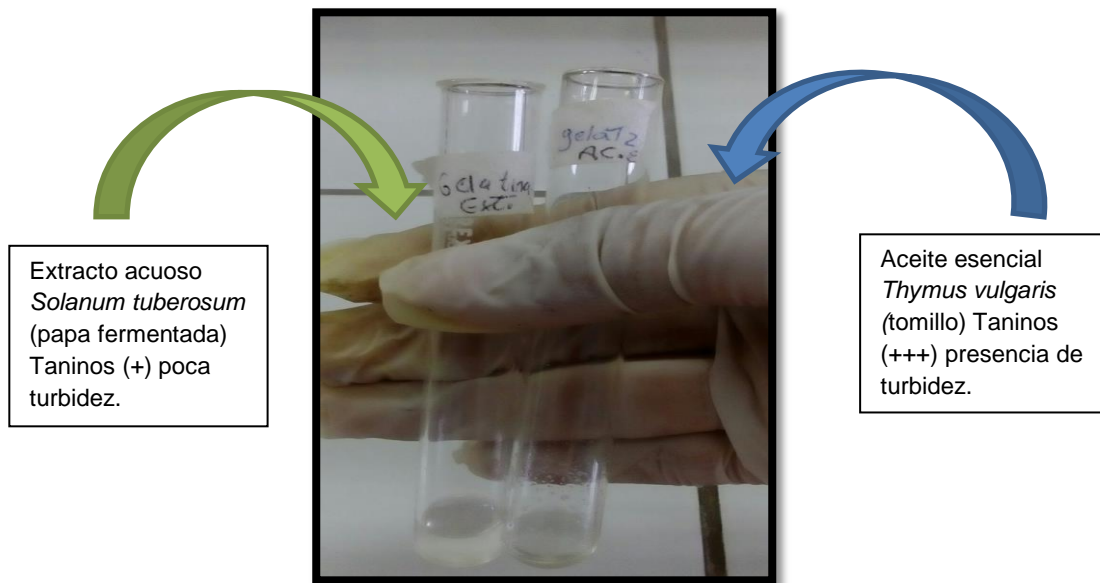


Foto N°6. Reconocimiento con Rvo. Gelatina

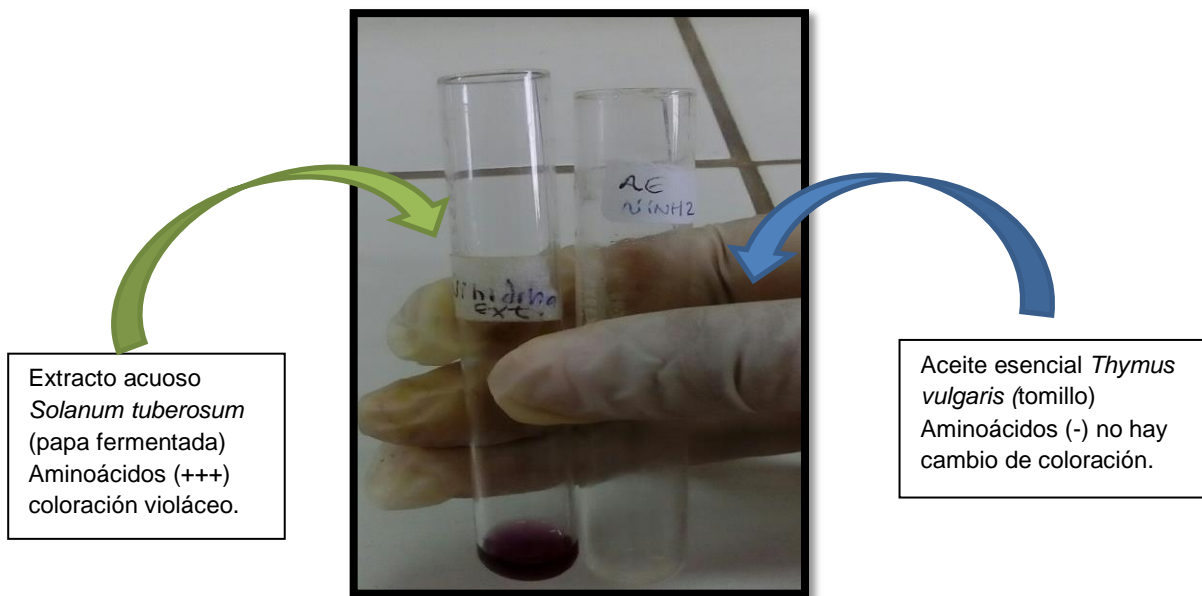


Foto N°7. Reconocimiento con el Rvo. Ninhidrina.

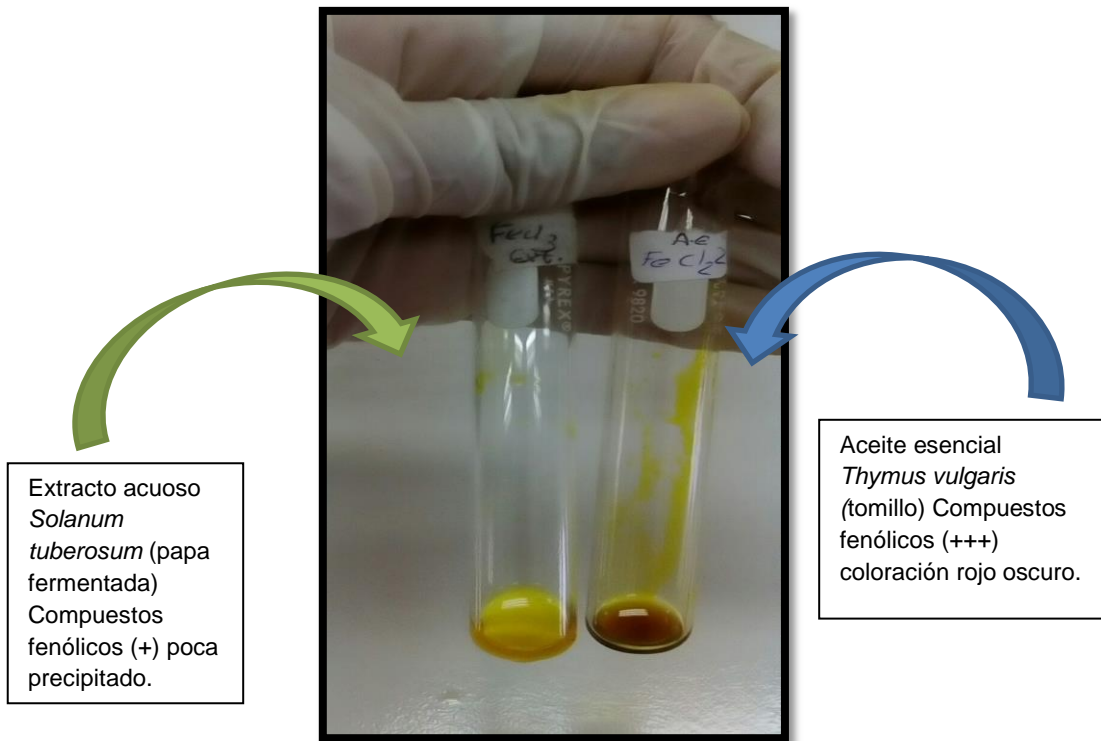


Foto N°8. Reconocimiento con Rvo. FeCl3

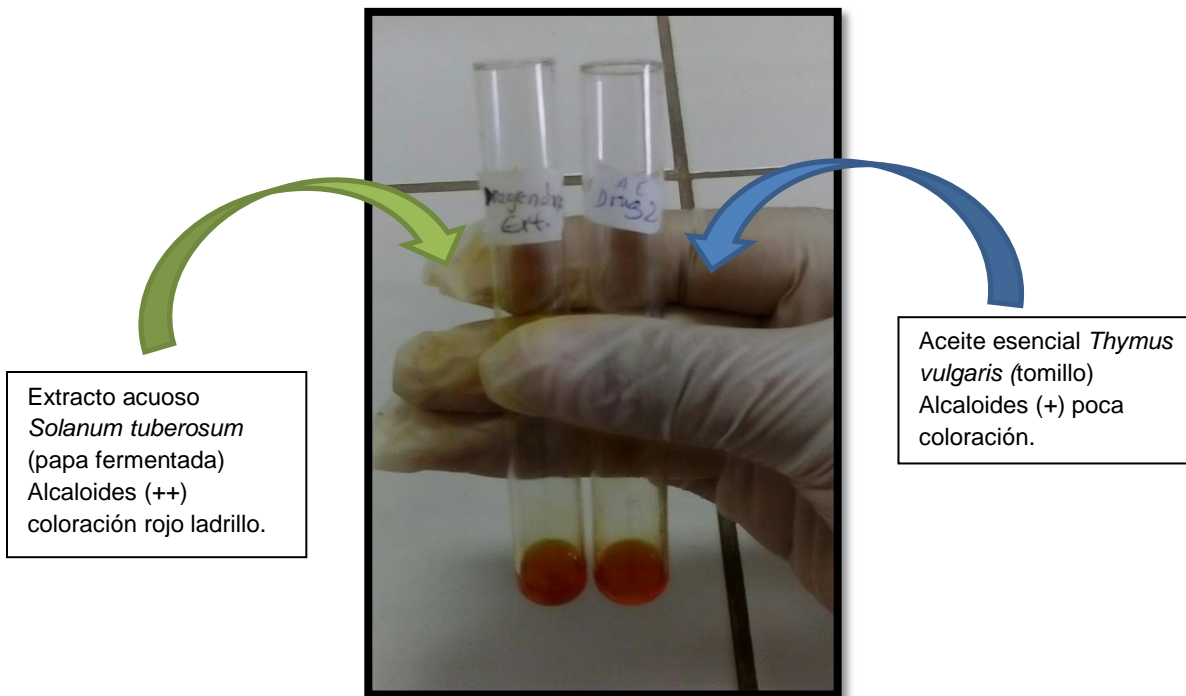


Foto N°9. Reconocimiento con Rvo. Dragendorff

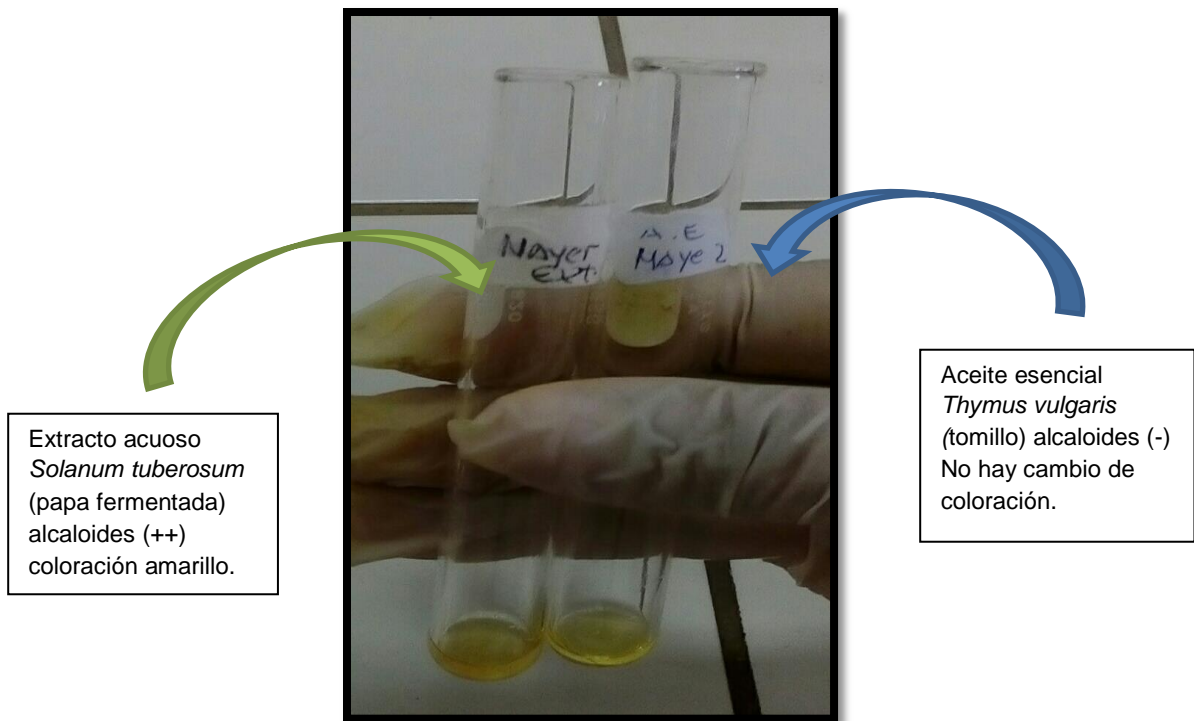


Foto N°10. Reconocimiento con Rvo. Mayer

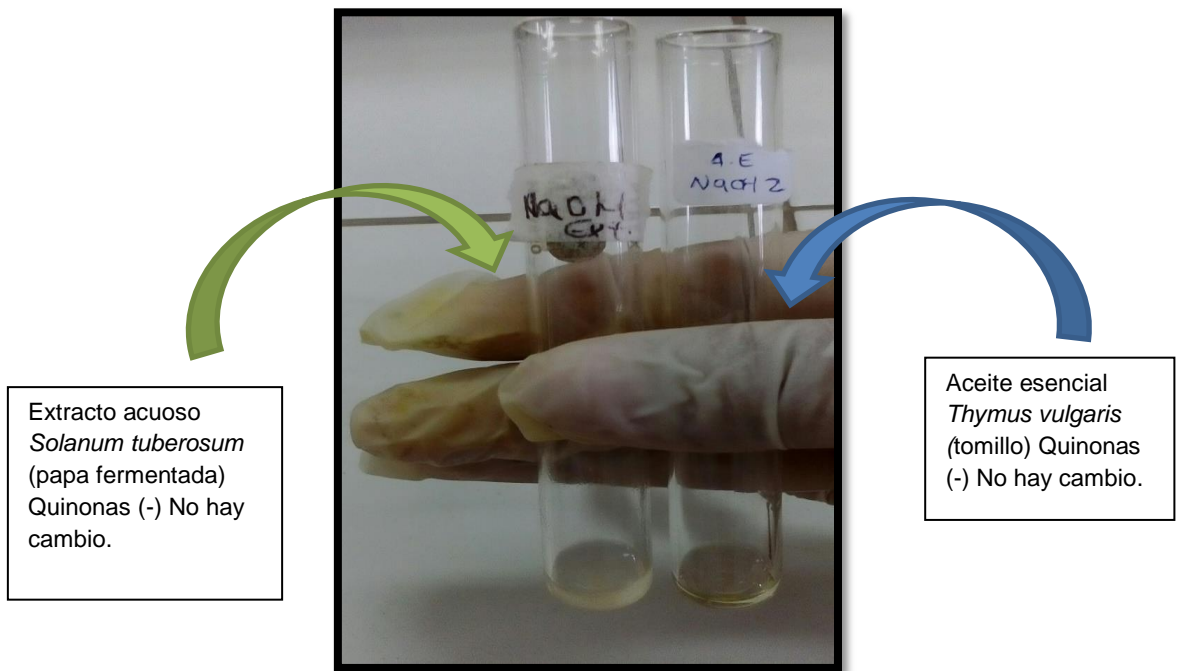


Foto N°11. Reconocimiento con Rvo. NaOH2



Foto N°12. Reconocimiento con Rvo. Molish

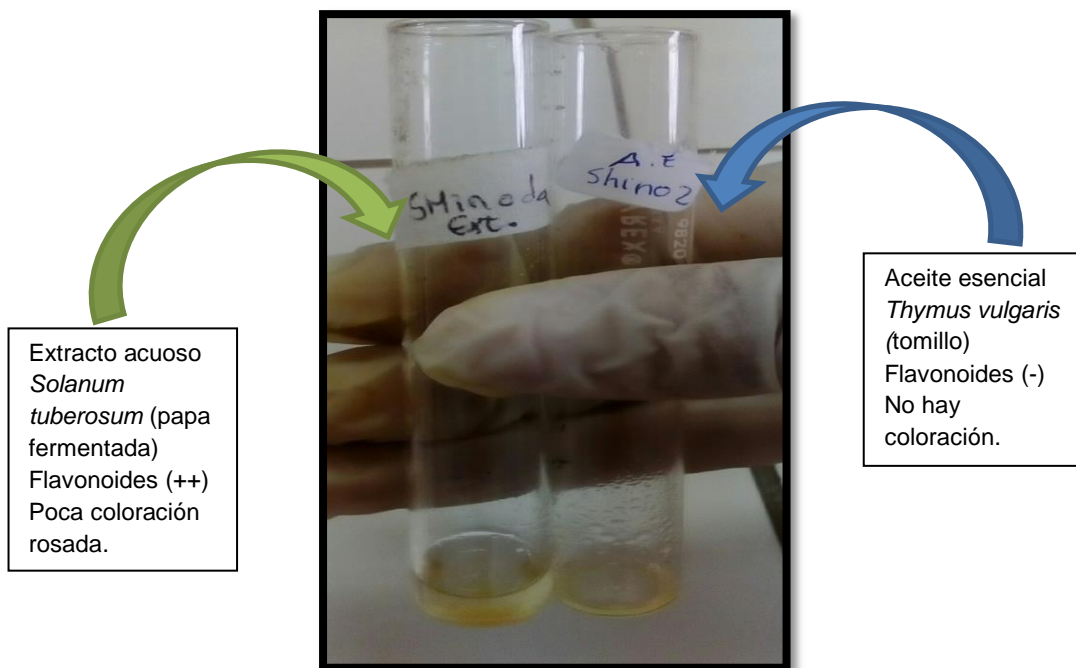


Foto N°13. Reconocimiento con Rvo. Shinoda.

ANEXO 05. Fotos de la preparación de las muestras.



Foto N°1. *Solanum tuberosum*
(papa fermentada).

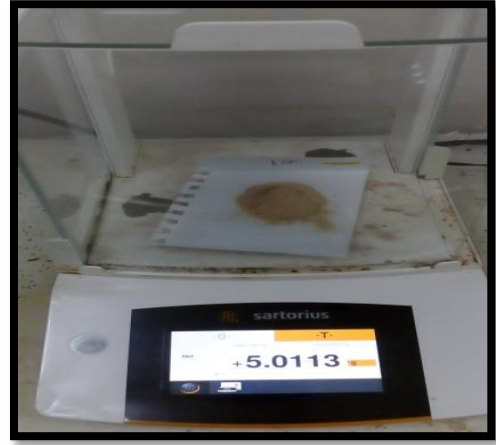


Foto N°2. Pesado de la
muestras en polvo.



Foto N°3. Baño Maria de las
diferentes concentraciones.



Foto N°4. Filtración y
envasado de las muestras.



Foto N°5. Aceite esencial *thymus vulgaris* (tomillo).



Foto N°6. Preparación de las diferentes concentraciones.



Foto N°7. Almacenado de los aceites esenciales.



Foto N°8. Grupo control tween 80 y cefalexina.

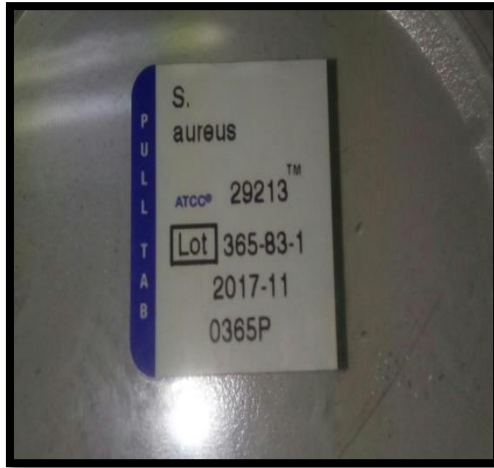


Foto N°9: cepa *Staphylococcus aureus* código ATCC29213.

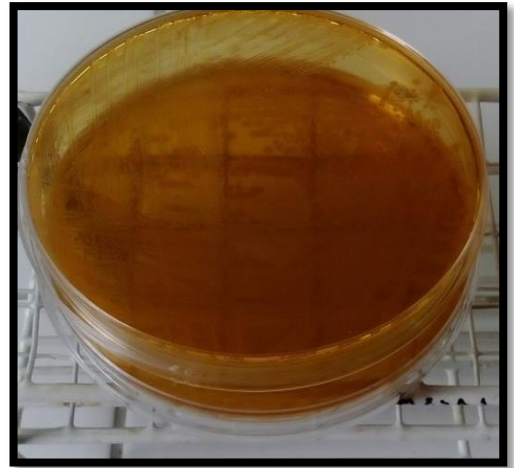


Foto N10. Enriquecimiento de la cepa en agar TSB.



Foto N°11. Conservación de la siembra en la estufa a 37°Cx 24 a 48 horas.

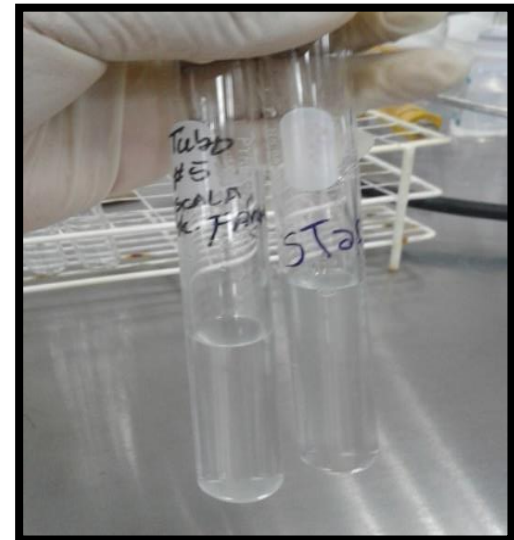


Foto N°12. Preparación del estándar 0.5 Mc Farland.

ANEXO 06. Fotos del sembrado, aplicación de discos y resultado.



Foto N°1. Preparación del agar Muller-Hinton y vertido de las placas.



Foto N°2. Sembrado de la cepa *Staphylococcus aureus*.



Foto N°3. Discos estériles para cada una de las muestras.



Foto N°4. Discos embebidos con cada una de las muestras.



Foto N°5. Colocación de los discos del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada).



Foto N°6. Colocación de los discos del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo).



Foto N°7. Colocación de las placas en la incubadora a 37°C por 48 horas.

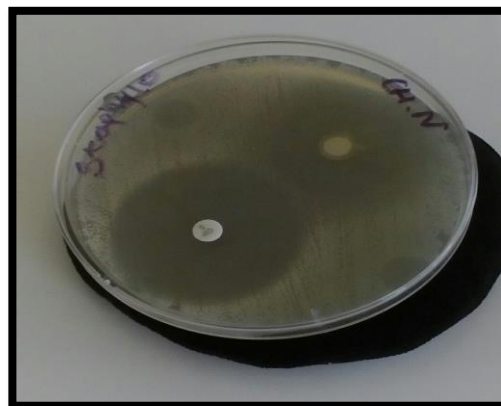


Foto N°8. Resultados del extracto acuoso *Solanum tuberosum* (papa fermentada) chuño negro al 5% y grupo control cefalexina.



50%



70%



90%

Foto N°9. Resultados del aceite esencial *Thymus vulgaris* (tomillo).

ANEXO 07. Ficha de la cepa *Staphylococcus aureus* ATCC 29213



Instituto Nacional de Salud

B358600030698 CEPA STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 29213

Denominación CEPA STAPHYLOCOCCUS AUREUS ATCC 29213

Principal

Presentación Unidad

Documento(s):

- Hoja de datos de seguridad (Safety Data Sheet)
- Hoja de datos del producto (Product Sheet).
- Certificado de análisis del mismo lote

Características

- Cepas de cultivo inicial (pasaje cero)
- Número ATCC: 29213
- Presentación: Vial. Conteniendo cultivo liofilizado.
- Vial con precinto de seguridad
- Condiciones de almacenamiento
Congelado: -80°C o menos
Liofilizado: 2°C a 8°C
- Condiciones de transporte: Transporte en contenedor de bioseguridad.

Fecha de Vencimiento

No menor de 2 Años