UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

Tema:

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO DE MATICO (*Piper aduncum* L.) Y CHILCA (*Baccharis latifolia*) FRENTE A AMOXICILINA MÁS ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Escherichia coli*

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médicos Veterinarios otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente**,** Carrera de Medicina Veterinaria.

Autores

Evelin Cristina Burbano Valverde

Anderson Valentín Tipán Cruz

Tutor

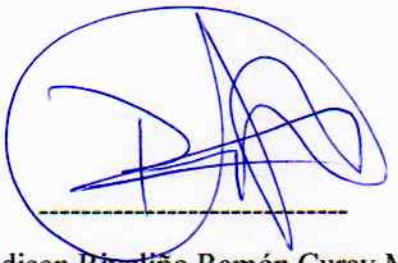
Dr. Edison Riveliño Ramón Curay MSc.

Guaranda-Ecuador

2025

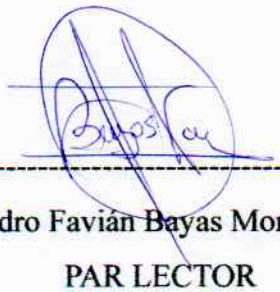
COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO DE MATICO (*Piper aduncum* L.) Y CHILCA (*Baccharis latifolia*) FRENTE A AMOXICILINA MÁS ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Escherichia coli*

REVISADO Y APROBADO POR:



Dr. Edison Riveliño Ramón Curay MSc.

TUTOR



Ing. Isidro Favián Bayas Morejón PhD.

PAR LECTOR



Dra. Jenny Marcela Martínez Moreira MSc.

PAR LECTOR

NOTARÍA TERCERA
Msc. Ab. Henry Rojas Narváez
GUARANDA - ECUADOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Nosotros, Evelin Cristina Burbano Valverde con CI 0202141420 y Anderson Valentín Tipán Cruz, con CI 1721167334, declaramos que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

Evelin Cristina Burbano Valverde
CI. 0202141420
EGRESADA

Anderson Valentín Tipán Cruz
CI. 1721167334
EGRESADO

Dr. Edison Riveliño Ramón Curay MSc
CI. 1102812607
TUTOR

Notaría Tercera del Cantón Guaranda
Msc.Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario

NOTARÍA TERCERA
Msc. Ab. Henry Rojas Narváez
GUARANDA - ECUADOR

No. ESCRITURA	20250201003P02964

DECLARACION JURAMENTADA
OTORGADA POR:
TIPAN CRUZ ANDERSON VALENTIN
BURBANO VALVERDE EVELIN CRISTINA
CUANTIA: INDETERMINADA
FACTURA: 001-002- 000015490 DI: 2 COPIAS

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día doce de noviembre de dos mi veinticinco, **ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda**, comparecen los señores TIPAN CRUZ ANDERSON VALENTIN, **soltero, con celular número 0939963329, correo electrónico andersontipan37@gmail.com; y,** BURBANO VALVERDE EVELIN CRISTINA, soltera, con celular numero 0987138316, correo electrónico evelin.c.b.v.97@gmail.com, domiciliados en la vía a Casipamba de la ciudad de Guaranda, provincia Bolívar, por sus propios derechos. Los comparecientes son de nacionalidad ecuatoriana, mayores de edad, hábiles e idóneas para contratar y obligarse a quienes de conocerlos doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana, bien instruidos por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que proceden libre y voluntariamente, advertidos de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presentan su declaración Bajo Juramento que dicen: **DECLARAMOS QUE EL PRESENTE TRABAJO DE TITULACIÓN: COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO DE MATICO (*Piper aduncum* L.) Y CHILCA (*Baccharis latifolia*) FRENTE A AMOXICILINA MÁS ÁCIDO CLAVULÁNICO SOBRE *Escherichia coli*. Previo la obtención del título de Médico Veterinario otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, carrera de Medicina Veterinaria,** es de nuestra autoría, este documento no ha sido previamente presentado por ningún grado de calificación profesional y que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas por los autores. Es todo cuanto podemos declarar en honor a la verdad, la misma que la hacemos para los fines legales pertinentes. **HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA.** La misma que queda elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que les fue a los comparecientes por mí el Notario en unidad de acto, aquellos se afirman y se ratifican de todo lo expuesto y firman conmigo en unidad de acto, quedando incorporado al protocolo de esta Notaria, la presente declaración, de todo lo cual doy fe. -

TIPAN CRUZ ANDERSON VALENTIN
C.C.1721167334

BURBANO VALVERDE EVELIN CRISTINA
C.C.0202141420

AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA

NOTARÍA TERCERA
GUARANDA - ECUADOR

Evelin Burbano - Anderson Tipán

COMPARACIÓN DEL EFECTO ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO DE MATICO (PIPER ADUNCUM) Y CHILCA (BACCH...

My Files

My Files

Universidad Estatal de Bolivar

Detalles del documento

Identificador de la entrega
trn:oid:::3117:520805076

Fecha de entrega
30 oct 2025, 9:28 p.m. GMT-5

Fecha de descarga
30 oct 2025, 9:52 p.m. GMT-5

Nombre del archivo
Tesis final (2).docx

Tamaño del archivo
6.9 MB

97 páginas

15.165 palabras

91.325 caracteres

Dr. Edison Riveliño Ramón Curay MSc.
TUTOR

10% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

Filtrado desde el informe

- Bibliografía
- Texto citado
- Texto mencionado
- Coincidencias menores (menos de 12 palabras)

Exclusiones

- N.º de coincidencias excluidas

Fuentes principales

10%	Fuentes de Internet
0%	Publicaciones
7%	Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

Marcas de integridad

N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

Dr. Edison Riveliño Ramón Curay MSc.
TUTOR

DEDICATORIA

La investigación realizada la consagro a Dios, ya que gracias a su bondad he conseguido concluir mi carrera.

A mi hermana, madre y novio, porque ellos persistentemente estuvieron a mi lado brindándome su soporte y consejos para hacer de mí una mejor persona.

A mis suegros por brindarme la familiaridad, lecciones, congruencia y recursos para poder culminar con esta investigación.

Evelin Cristina Burbano Valverde

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, a mi hermano y hermanas, a mi novia y a su familia por estar presentes en cada paso que dimos para completar la investigación sin ellos no hubiese podido llegar tan lejos en este proceso por ser parte de esta etapa de mi carrera y al ser el pilar fundamental al cual lo debo todo.

Anderson Valentín Tipán Cruz

AGRADECIMIENTO

Estoy inmensamente agradecida al Laboratorio de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar tanto al personal técnico y de laboratorio, cuya destreza y dedicación han sido decisivos en la realización de los experimentos y análisis para este proyecto. Su habilidad y competencia técnica han sido respetadas en cada paso del camino.

Me siento en deuda de gratitud con mis suegros por su generoso aporte y visión, que han enriquecido significativa nuestra investigación.

Mi sincera apreciación y agradecimiento a mi hermana y mi madre cuyo soporte y aliento han sido fundamentales en cada etapa de este arduo proceso.

Evelin Cristina Burbano Valverde

AGRADECIMIENTO

Mi más sincero reconocimiento a los laboratorios de investigación y a los técnicos de la Universidad Estatal de Bolívar por facilitarnos el acceso a sus instalaciones, al bridarnos su apoyo y guía en cada paso de la investigación recalcando el impacto de su conocimiento en nuestra investigación ya que sin su apoyo el camino hubiese sido en extremo complicado.

Agradezco de manera especial a mis padres, hermanos y a mi pareja por apoyarme en cada uno de los pasos que se han cruzado para llevar a cabo la investigación, tanto financieramente como emocionalmente, no existen palabras para expresar lo inmensamente agradecido que me encuentro con cada uno.

De igual manera extiendo mi agradecimiento al Dr Ramon Riveliño nuestro tutor gracias a quien hemos podido llevar a cabo el trabajo de investigación, por su presencia, guía y consejo durante la elaboración de nuestra tesis.

Anderson Valentín Tipán Cruz

RESUMEN

La presente investigación evaluó el potencial antimicrobiano de extractos de *Piper aduncum* (matico) y *Baccharis latifolia* (chilca) frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, con el fin de identificar alternativas naturales al uso de antibióticos convencionales. El estudio se desarrolló en los laboratorios de la Universidad Estatal de Bolívar, aplicando un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro tratamientos: matico, chilca, combinación de ambos y un tratamiento testigo con amoxicilina + ácido clavulánico. Se realizaron análisis bromatológicos para determinar parámetros como humedad, cenizas y fibra, y cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) para identificar compuestos bioactivos. Los resultados mostraron que el matico presentó mayor contenido de fibra (23,83%) y cenizas (15,54%) que la chilca (17,35% y 8,97%, respectivamente). El análisis cromatográfico reveló en el matico la predominancia de apiol (65,84%), mientras que en la chilca destacaron γ-gurjuneno (13,73%) y 4H-Naphth[1,2-b]oxireno[c]furan (14,75%). Las pruebas de inhibición bacteriana evidenciaron halos de 14,66 mm para matico, 14 mm para chilca, 12 mm para la combinación y 6,33 mm para el testigo, siendo las diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Estos resultados indican que ambos extractos poseen actividad antimicrobiana comparable o superior al antibiótico evaluado, respaldando su potencial como alternativas fitoterapéuticas para el control de bacterias patógenas. Se concluye que el perfil químico y bromatológico de estos extractos está estrechamente vinculado a su eficacia antimicrobiana, constituyendo una base científica para futuras investigaciones orientadas a su aplicación en medicina veterinaria y producción agropecuaria sostenible.

Palabras clave: *Piper aduncum, Baccharis latifolia*, antimicrobiano natural, bromatología, cromatografía, *Escherichia coli.*

SUMMARY

This study evaluated the antimicrobial potential of *Piper aduncum* (matico) and *Baccharis latifolia* (chilca) extracts against *Escherichia coli* ATCC 25922, aiming to identify natural alternatives to conventional antibiotics. The research was conducted at the laboratories of Universidad Estatal de Bolívar, applying a Completely Randomized Design (CRD) with four treatments: matico, chilca, their combination, and a control treatment with amoxicillin + clavulanic acid. Bromatological analyses determined parameters such as moisture, ash, and fiber, while gas chromatography–mass spectrometry (GC-MS) identified bioactive compounds. Matico showed higher fiber (23.83%) and ash (15.54%) content than chilca (17.35% and 8.97%, respectively). Chromatographic analysis revealed apiol (65.84%) as the main component in matico, while γ-gurjunene (13.73%) and 4H-Naphth[1,2-b]oxireno[c]furan (14.75%) predominated in chilca. Antibacterial inhibition tests recorded halos of 14.66 mm for matico, 14 mm for chilca, 12 mm for the combination, and 6.33 mm for the control, with statistically significant differences ($p < 0.05$). These findings indicate that both extracts have antimicrobial activity comparable or superior to the tested antibiotic, supporting their potential as phytotherapeutic alternatives for controlling pathogenic bacteria. It is concluded that the chemical and bromatological profile of these extracts is closely linked to their antimicrobial efficacy, providing a scientific basis for future research aimed at their application in veterinary medicine and sustainable livestock production.

Keywords: *Piper aduncum, Baccharis latifolia*, natural antimicrobial, bromatology, chromatography, *Escherichia coli.*

INDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO I 1

1.1. INTRODUCCIÓN 1
1.2. PROBLEMA 3
1.3. OBJETIVOS 5
1.4. HIPÓTESIS 6

CAPÍTULO II 7

2.1. MARCO TEÓRICO 7
2.1.1. Características de *E. coli* 7
2.1.2. Factores de virulencia de *E. coli* 8
2.1.3. Técnicas de estudio de sensibilidad a los antimicrobianos 8
2.1.4. Concentración mínima inhibitoria (CMI) 10
2.1.5. Medios de cultivo para identificación de bacterias Gram(+) y Gram (-) 10
2.1.6. Mecanismo de resistencia antimicrobiana 13
2.1.7. Antibióticos (mecanismo de acción) 17
2.1.8. Amoxicilina más ácido clavulánico 19
2.1.9. La Fitoterapia 22
2.1.10. ¿Qué son los extractos vegetales? 22
2.1.11. Metabolitos secundarios y su participación en el efecto antimicrobiano 23
2.1.12. MATICO (*Piper Aduncum*) 23
2.1.13. CHILCA (*Baccharis Latifolia*) 27
2.1.14. Soxhlet 31

CAPÍTULO III 34

3.1. MARCO METODOLOGICO 34
3.2. UBICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN. 34
3.3. METODOLOGÍA. 34
3.3.1. Material experimental. 34
3.3.2. Factores en estudio. 35
3.3.3. Tratamientos. 35

3.3.4. Descripción técnica del ensayo. 35
3.3.5. Tipo de diseño experimental o estadístico. 36
3.3.6. Tipos de análisis. 36
3.3.7. Métodos de evaluación y datos a tomarse: 37
3.3.8. Manejo del experimento. 38

CAPÍTULO IV 43

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 43
4.1. Interpretación de resultados 43
4.2. Análisis de varianza (ANOVA) 52
4.3. Comprobación de hipótesis 55

CAPÍTULO V 57

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 57
5.1. Conclusiones 57
5.2. Recomendaciones 58

BIBLIOGRAFÍA 59

ANEXOS 1

ÍNDICE DE TABLAS

N.º	Contenido	Pág.
1	Diferentes mecanismos de acción de los antibióticos.	16
2	Clasificación de los antibióticos betalactámicos	18
3	Ubicación taxonómica del Piper Aduncum	24
4	Ubicación taxonómica del Baccharis Latifolia	28
5	Ventajas y desventajas de los fluidos supercríticos	31
6	Tratamientos en estudio	35
7	Descripción técnica del ensayo.	35
8	Parámetros y métodos del examen Bromatológico	38
9	Resultados del análisis bromatológico	43
10	Resumen estadístico de los diámetros de inhibición	44
11	Cromatografía del extracto de Matico SFE	46
12	Cromatografía del extracto de chilca SFE	49
13	Resultado Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)	51
14	Resultados Prueba de Levene	52
15	ANOVA de los tratamientos en estudio.	52
16	Resultados Prueba Tukey HSD	53

INDICE DE FIGURAS

N°	Contenido	Pag.
1	Clasificación de las cepas de *E. coli*	7
2	Mecanismos de resistencia bacterianos más comunes frente los agentes microbianos	15
3	Mecanismo de acción de los betalactámicos	19
4	Inhibición bacteriana por tratamiento	45
5	Cromatografía del extracto de Matico SFE	47
6	Cromatografía del extracto de chilca SFE	50
7	Resultados Prueba Tukey HSD Medias	54

ÍNDICE DE ANEXOS

N.º	Contenido
1	Mapa de la ubicación de la investigación.
2	Base de datos.
3	Resultado Análisis bromatológico Matico y Chilca
4	Resultados sensibilidad antimicrobiana para los tratamientos en estudio
5	Resultado Cromatografía del extracto de Matico SFE
6	Resultado Cromatografía del extracto de chilca SFE
7	Fotografías
8	Glosario de términos

CAPÍTULO I

1.1. Introducción

La resistencia antimicrobiana (RAM) se ha consolidado como una de las amenazas sanitarias más críticas del siglo XXI, comprometiendo seriamente la eficacia de los tratamientos antibióticos convencionales y generando consecuencias devastadoras en la salud pública global. Las infecciones causadas por bacterias multirresistentes se asocian con un incremento sustancial en las tasas de mortalidad, hospitalizaciones prolongadas y costos médicos elevados (Ortiz Brizuela et al., 2023). Esta problemática demanda no solo un uso racional de los antibióticos bajo prescripción médica, sino también la implementación urgente de estrategias preventivas como la vacunación y medidas de higiene efectivas.

En América Latina es un problema creciente y plantea serias amenazas para la salud regional. La combinación de acceso y uso de los servicios de atención médica es desigual el uso excesivo de antibióticos y la falta de regulación de la venta de estos medicamentos han contribuido la rápida propagación de bacterias resistentes a los medicamentos. Esto no sólo dificulta el tratamiento de la enfermedad, pero también aumenta los costos de atención médica y reduce la efectividad de intervención médica. Por ello, los médicos desempeñan un papel significativo para la disminución de la resistencia por medio de la administración de los antibióticos solo cuando es necesario, así como la prescripción del antibiótico correcto para la infección específica en el momento, con la dosis y duración oportuna. (Palomino Castellano et al., 2023)

Como país en desarrollo, Ecuador sufre muchas deficiencias en su sistema de salud pública; sin embargo, se busca alcanzar objetivos de salud encaminados a mejorar la calidad de la atención sanitaria, como potenciar la investigación y mejorar el conocimiento sobre el uso adecuado de los medicamentos y la resistencia a los antibióticos. se ha informado que en el país se descubrió por primera vez en 2010 el microorganismo *Klebsiella pneumoniae* que produce cabapenemasas que no permiten que los antibióticos tipo carbapenémicos actúen. (Tubon et al., 2024)

Cabe señalar que el Instituto Nacional de Investigaciones en Salud Pública (INSPI) es el organismo que monitorea la resistencia bacteriana a los medicamentos en el país, y en 2018 dio a conocer el valor de la resistencia a los antibióticos en diversos centros médicos del país para organismos como *Escherichia coli. y Klebsiella pneumoniae*, que se tratan, *Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus* son susceptibles a una variedad de antibióticos, lo que sugiere que, como en el resto del mundo, la resistencia a los antibióticos está aumentando en el país. (Tubon et al., 2024)

Las plantas se encuentran entre los recursos biológicos más estudiados en la búsqueda de antibióticos seguros y eficaces que contribuyan a la prevención. Una solución al principal problema de la resistencia a los antibióticos, gracias a la presencia de una amplia gama de compuestos químicos y metabolitos secundarios con propiedades probadas frente a una amplia gama de patógenos (bacterias, hongos y virus). La gestión y uso sostenible de estos recursos naturales es una prioridad absoluta para usos industriales sin afectar al medio ambiente (Pérez et al., 2021).

Una investigación realizada en Ecuador en la provincia de Bolívar indica que los extractos etanólicos de la raíz, tallos, hojas y flores de la Chilca (*Baccharis latifolia*) tiene un buen potencial antimicrobiano al ser expuestos contra cepas de *Listeria spp., Salmonella spp. Y Escherichia coli*, donde la capacidad antimicrobiana se midió a través de zonas de inhibición. Esta acción puede deberse a la presencia de monoterpenos y flavonoides en el extracto pues se les atribuye la responsabilidad de brindar a la planta la resistencia contra microorganismos. Adicionalmente *Baccharis latifolia* posee una amplia actividad biológica como es el caso de actividad antinflamatoria, antioxidante, antifúngica y anticancerígena (Sandoval, 2021).

Matico (*piper aduncum*) también es usado debido a sus actividades biológicas como antioxidante, hepatoprotector, antialérgico, antitrombótico, anticancerígeno, antibacteriano y antifúngico. Se le considera también diurética. Según diversos estudios, los péptidos activos y proteínas derivadas de esta planta tienen efectos beneficiosos para la cicatrización y curación de heridas agudas y crónicas. Además,

se ha demostrado un efecto antisecretorio y gastroprotector al evaluar el extracto etanólico y metanólico que posse *piper adumcum* (Ore et al., 2021).

1.2. Problema

La aparición de la resistencia a los antibióticos ha hecho que el tratamiento de las enfermedades sea una tarea difícil de tratar para los médicos, quienes deben tomar decisiones de tratamiento racionales y basadas en evidencia para mejorar la salud de los pacientes. Este fenómeno se ha desarrollado hasta tal punto en el que la resistencia bacteriana a múltiples fármacos, tanto a los antibióticos ampliamente utilizados como a los limitados, ya no es un fenómeno inusual, sino que se ha convertido en parte de nuestro diario vivir. Práctica habitual en todos los niveles, principalmente en unidades de cuidados intensivos, hospitales y departamentos de urgencias, y sobre todo en la comunidad; y en algunos casos en lugares inesperados, hablando así de la presencia de genes de resistencia a múltiples antibióticos en tribus indígenas de América del Sur que nunca han estado expuestas a lo que llamamos "civilización" (Gonzales et al., 2019).

Las causas asociadas con la RA incluyen el uso generalizado de antibióticos y la falta de regulación en esta área en relación con la prescripción masiva, la automedicación, el tratamiento a corto plazo y su uso aplicado en muchos otros campos como la agricultura, la ganadería y la ganadería de consumo, industria alimentaria, medicina veterinaria, etc. De hecho, la mayoría de las infecciones son causadas por bacterias multirresistentes. Se originan en hospitales y estos patógenos pueden sobrevivir en nichos hospitalarios años (Barrantes et al., 2022).

Algunos microorganismos que se han tornado más resistentes a los antibióticos son: *Helicobacter pylori, Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae y Salmonella spp.*

Las cepas resistentes se vuelven dominantes debido a la presión selectiva de los antibióticos que matan las bacterias sensibles.

Importante tener en cuenta que a pesar de la resistencia a los antibióticos es un tema que requiere mayor atención no se puede pasar por alto la importancia de los efectos

secundarios y la toxicidad asociados con el uso de estos medicamentos (Gonzales et al., 2019).

Una posible alternativa para solucionar o mitigar en cierta medida la problemática que se presenta es la utilización de las plantas medicinales, medicina alternativa o la aplicación de la ciencia denominada como Fitoterapia esta hace posible el trabajar con diferentes plantas que tengan propiedades medicinales esto para poder reducir la RA, controlando de forma leve a moderada las afecciones o patologías que pretendamos manejar, tomando en cuenta que esta ciencia llega a tener finalidad profiláctica, curativa, paliativa o diagnóstica y se la puede manejar a nivel interno o externo como es el caso de (cremas, pomadas, ungüentos, emulsiones, polvos dérmicos, aceites esenciales, extractos, maceraciones, etc).

1.3. Objetivos

- **Objetivo general:**

Comparar el efecto antimicrobiano del extracto de Matico (*Piper Aduncum*) y Chilca (*Baccharis latifolia*) frente a amoxicilina más acido clavulánico sobre *Escherichia coli*"

- **Objetivos específicos**

  - Determinar la composición bromatológica de la materia prima vegetal.
  - Analizar la efectividad antimicrobiana de los extractos vegetales frente a *E. coli*.
  - Identificar la composición química del extracto con mejor efecto antimicrobiano.

1.4. Hipótesis

HO: No existe efecto antimicrobiano del extracto de matico (*Piper dumcum*) y la chilca (*Baccharis latifolia*) frente a amoxicilina más acido clavulánico sobre *Escherichia coli.*

HI: Existe efecto antimicrobiano del extracto de matico (*Piper adumcum*) y la chilca (*baccharis latifolia*) frente a amoxicilina más acido clavulánico sobre *Escherichia coli.*

CAPÍTULO II

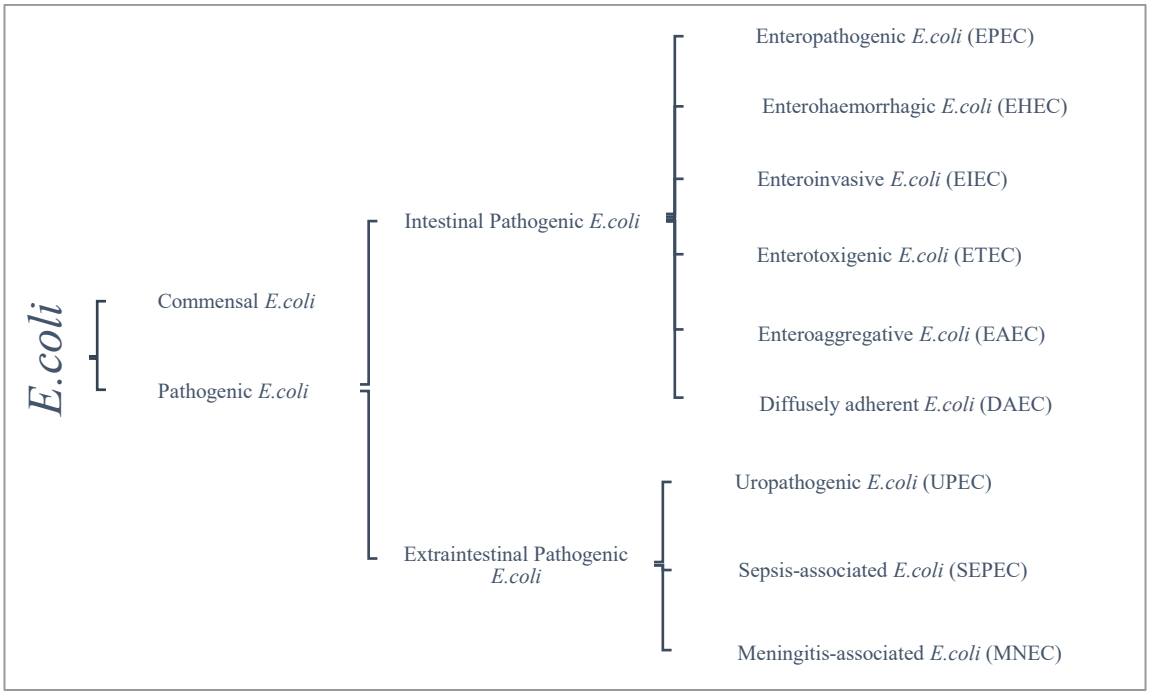
2.1.Marco teórico

2.1.1. Características de *E. coli*

Escherichia coli es una bacteria de amplia distribución en diversos ambientes, clasificada dentro de las Gram negativas. Se caracteriza por ser anaerobia facultativa, oxidasa negativa y capaz de fermentar azúcares como la lactosa y la glucosa. Morfológicamente presenta forma de bacilo y pertenece a la familia *Enterobacteriaceae,* dentro del grupo de las *Gammaproteobacteria*. Posee movilidad gracias a sus flagelos peritricos, lo que le permite desplazarse libremente. Es un microorganismo comensal habitual del tracto gastrointestinal de los animales de sangre caliente y uno de los más resistentes de este microbiota. No obstante, algunas de sus cepas presentan factores patógenos de relevancia clínica tanto para el ser humano como para otras especies. Estas se clasifican principalmente en tres grupos de interés: comensales, diarrogénicos y extraintestinales (García, 2024).

Figura 1

Clasificación de las cepas de E. coli



Nota. Tomado de Chenen & Corao. (2022)

2.1.2. Factores de virulencia de *E. coli*

Las cepas patógenas de *Escherichia coli* suelen poseer diversos factores de virulencia que potencian su capacidad infecciosa. Entre los más relevantes se encuentran las adhesinas, las toxinas, los sideróforos, los sistemas de secreción y la formación de biopelículas, todos ellos determinantes en la interacción con el huésped y en la patogenicidad de la bacteria. Las adhesinas, en particular, desempeñan un papel esencial al facilitar la fijación del microorganismo a las células del hospedador, permitiendo su colonización. Estas estructuras se localizan en la membrana externa bacteriana y también se asocian a elementos como las fimbrias, las pili y los flagelos.

Por otro lado, el flagelo no solo cumple una función en la motilidad, sino que también interviene en el contacto con las células del huésped, posibilitando que la bacteria se desplace hacia ambientes favorables o se aleje de condiciones perjudiciales. En este sentido, los flagelos constituyen un componente fundamental para entender la patogenicidad de *E. coli,* debido a su directa relación con la movilidad bacteriana (García, 2024).

2.1.3. Técnicas de estudio de sensibilidad a los antimicrobianos

El análisis de la sensibilidad bacteriana frente a agentes antimicrobianos se lleva a cabo mediante diferentes enfoques, entre los que se incluyen métodos fenotípicos, bioquímicos y genéticos. Los procedimientos fenotípicos como las técnicas de dilución y difusión son los más empleados en laboratorio, ya que permiten observar directamente el comportamiento del microorganismo ante diversos antibióticos. En este tipo de ensayos, conocidos como antibiogramas, se expone un inóculo bacteriano estandarizado a una o varias concentraciones del fármaco. A partir de los resultados obtenidos, es posible clasificar las cepas evaluadas según su respuesta clínica en tres categorías: sensibles, intermedias o resistentes(Cernado & Saavedra, 2019).

2.1.3.1. Métodos de determinación de resistencia (fenotípicas)

- **Métodos de difusión**

Antibiograma disco-placa

El método de disco-placa consiste en utilizar discos de papel absorbente previamente impregnados con un antibiótico específico, los cuales se colocan sobre la superficie de una placa de Petri que contiene agar e inoculo bacteriano. A medida que el antibiótico se difunde en el medio, se genera un gradiente de concentración. La zona donde el crecimiento bacteriano se detiene indica la concentración mínima del antimicrobiano eficaz, evidenciada por el diámetro del halo de inhibición que rodea el disco (Martínez & Porras, 2021).

Tira de gradiente de CMI (Épsilon o E-test)

Tira de plástico no poroso o papel con un gradiente predefinido del antibiótico. El antibiótico difunde hacia el agar creándose a lo largo de la tira un gradiente exponencial de concentraciones. El crecimiento bacteriano quedará inhibido con una determinada concentración de antimicrobiano, es decir, a una determinada altura de la tira (Martínez & Porras, 2021).

- **Métodos de dilución**

Dilución en agar (gold standard)

Serie de placas con agar y concentraciones crecientes de un determinado antimicrobiano, diluido en el propio medio, a las que se añade el inóculo bacteriano estandarizado (Martínez & Porras, 2021).

Dilución en caldo

Medio líquido de cultivo (generalmente Müller-Hilton) con concentraciones crecientes del antimicrobiano al que se añade el inóculo bacteriano estandarizado (Martínez & Porras, 2021).

2.1.4. Concentración mínima inhibitoria (CMI)

La concentración mínima inhibitoria (CMI) representa el valor exacto del antibiótico necesario para impedir el crecimiento visible de un microorganismo patógeno. En la mayoría de los antibiogramas, esta medida se incluye con el propósito de seleccionar el fármaco más eficaz para el tratamiento, garantizando así la efectividad terapéutica. Este procedimiento, de naturaleza cuantitativa, permite determinar con precisión la potencia del antibiótico frente a una bacteria específica. Gracias a esta información, se puede elegir el medicamento más apropiado, incrementando las probabilidades de éxito en la erradicación de la infección y contribuyendo, además, al control de la resistencia antimicrobiana (IDEXX Laboratories, Inc, 2023).

2.1.5. Medios de cultivo para identificación de bacterias Gram (+) y Gram (-)

La identificación de *Escherichia coli* se realiza mediante el uso de medios de cultivo selectivos, siendo el agar MacConkey uno de los más empleados, complementado con diversas pruebas bioquímicas. Las pruebas enzimáticas más comunes son las de indol, catalasa y oxidasa, mientras que las que evalúan rutas metabólicas incluyen TSI, LIA, citrato y MIO. Estas pruebas permiten diferenciar las especies bacterianas según su metabolismo y la presencia de determinadas enzimas (Barros Iza et al*.,* 2023).

2.1.5.1.Agar MacConkey

El agar MacConkey es un medio selectivo y diferencial utilizado para la detección presuntiva de bacterias Gram negativas, ya que inhibe el desarrollo de bacilos Gram positivos. Su composición incluye cristal violeta y sales biliares que bloquean el crecimiento de las bacterias sensibles a dichos compuestos. En este medio, las bacterias que fermentan la lactosa generan ácido láctico, lo que disminuye el pH y provoca un cambio en el indicador, manifestando una coloración que refleja un pH menor de 6.8, característica de las cepas Lactosa positivas (Barros Iza et al., 2023).

2.1.5.2.Tinción Gram

La tinción de Gram permite distinguir entre bacterias Gram positivas y Gram negativas en función de la estructura de su pared celular. En el caso de E. coli, esta presenta una membrana externa compuesta por lípidos, lipoproteínas y lipopolisacáridos, además de una delgada capa de peptidoglicanos que no retiene el complejo cristal violeta-yodo. Por ello, tras la aplicación de safranina como colorante de contraste, las células Gram negativas, como *Escherichia coli,* adquieren una coloración rosada característica (Barros Iza et al., 2023).

2.1.5.3.Pruebas bioquímicas (para determinación de presencia de enzimas)

- **Oxidasa**

La prueba de oxidasa permite identificar la presencia de enzimas oxidasas en los microorganismos, las cuales actúan a través del sistema enzimático denominado citocromo oxidasa. Este sistema interviene en la cadena de transporte de electrones, transfiriéndolos al oxígeno y generando agua o peróxido de hidrógeno según la especie bacteriana. La técnica es útil para detectar microorganismos aerobios, microaerófilos y anaerobios facultativos, como *Escherichia coli.* Para su ejecución, se emplean tiras reactivas debido a su alta sensibilidad y rapidez de respuesta (Barros Iza et al., 2023).

- **Prueba Catalasa**

Esta prueba permite reconocer bacterias que producen la enzima catalasa, la cual se encuentra en la mayoría de los microorganismos que poseen citocromos. Dicha enzima cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno gaseoso, evidenciado por la aparición de burbujas durante la reacción. Este comportamiento confirma la presencia de catalasa en el microorganismo analizado (Espín, 2021).

- **Prueba de Idol**

La prueba de indol se utiliza para determinar la capacidad de ciertas bacterias de degradar el aminoácido triptófano mediante la acción de la enzima triptofanasa.

Este proceso implica la hidrólisis y desaminación del triptófano, dando como producto final el indol, compuesto que sirve como indicador de la actividad enzimática en las bacterias analizadas (Espín, 2021).

2.1.5.4.Pruebas bioquímicas (vías metabólicas)

- **El TSI (Triple Sugar Iron Agar)**

El medio TSI se emplea para diferenciar bacilos entéricos Gram negativos a partir de su capacidad para fermentar distintos azúcares como sacarosa, lactosa y dextrosa. Su principio se basa en el uso del indicador rojo fenol, el cual cambia de color conforme ocurre la acidificación del medio durante la fermentación. Además, permite detectar la producción de gas y de ácido sulfhídrico mediante la reacción del sulfato ferroso presente en el agar. La acidificación se manifiesta con un viraje de tonalidad, pasando del rojo anaranjado inicial a un color amarillo, acompañado de la posible formación de burbujas o grietas en el medio (Barros Iza et al., 2023).

- **Prueba de citrato**

El agar citrato se utiliza para evaluar la capacidad metabólica de las bacterias para emplear el citrato como única fuente de carbono y las sales de amonio como fuente de nitrógeno. Las cepas que logran desarrollarse en este medio sintetizan la enzima citrato-permeasa, la cual transforma el citrato en piruvato. Como resultado de esta reacción, las sales de amonio se descomponen en amoníaco, incrementando el pH del medio. Este cambio provoca la transición del indicador bromotimol verde hacia un color azul intenso cuando el pH supera el valor de 7,6, lo que confirma la utilización del citrato (Espín, 2021).

- **LIA**

El medio Lisina Hierro Agar (LIA) es ampliamente aplicado para distinguir bacilos entéricos Gram negativos, en especial los pertenecientes al género Salmonella. Este medio permite determinar la capacidad de los microorganismos para fermentar glucosa, descarboxilar o desaminar lisina y generar sulfuro de hidrógeno (H_2S). Las

variaciones de color y precipitados en el medio sirven como indicadores de las reacciones bioquímicas ocurridas durante el crecimiento bacteriano (Valdés, 2019).

- **MIO**

El medio MIO, que combina la evaluación de motilidad, producción de indol y actividad de la enzima ornitina descarboxilasa, se emplea en la diferenciación de bacilos entéricos Gram negativos. Su utilidad radica en la identificación simultánea de tres características metabólicas claves: la capacidad de movimiento bacteriano, la descomposición del aminoácido ornitina y la producción de indol, producto derivado del metabolismo del triptófano (Valdés, 2019).

2.1.5.5.Antibióticos

Los antibióticos son usados para el tratamiento de una gran variedad de enfermedades que afectan a humanos y animales. El uso indiscriminado de los antibióticos en la medicina y en la producción de alimentos tiene un efecto adverso en el incremento de la resistencia a los antibióticos, no solamente por las bacterias patógenas, sino también por la bacterias no patógenas o comensales. Es importante destacar que no solamente es necesario tener conocimientos sobre la susceptibilidad a los antibióticos para seleccionar los más apropiados en un tratamiento clínico, sino también es necesario conocer la resistencia a los antibióticos de las bacterias aisladas alimentos para establecer la transferencia de esa resistencia a las bacterias no patógenas. Más aun, teniendo en cuenta que los miembros de las familias *Enterobacteriaceae* albergan genes en plásmidos que transfieren resistencia para casi todos los antibióticos a bacterias de la misma especie e incluso entre especies (Sanz, 2021).

2.1.6. Mecanismo de resistencia antimicrobiana

La resistencia a los antimicrobianos se refiere a los procesos que presentan los microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos), que inciden y hacen ineficaces a los medicamentos utilizados en su tratamiento. Mas específicamente, como la capacidad de la bacteria para sobrevivir a las concentraciones terapéuticas utilizadas de un medicamento particular. A nivel genético se han identificado

diferentes procesos para el intercambio de información entre bacterias que se han asociado a la resistencia (Camacho, 2023).

- **Conjugación:** intercambio de material genético entre dos bacterias mediante contacto físico.
- **Transformación:** que consiste en la incorporación por una bacteria de ácido desoxirribonucleico (ADN) libre en el medio, como resultado de la lisis de otras bacterias.
- **Transducción:** transferencia de ADN cromosómico o plasmídico de una bacteria a otra, utilizando como vehículo un bacteriófago.

Los principales mecanismos que presentan las bacterias para hacer frente a los antibióticos incluyen la eliminación activa de los mismos por bombas de extrusión de membrana, la hidrólisis enzimática y la modificación de las dianas de los antibióticos. Sin embargo, existen otras formas de defensa de las bacterias frente a estos compuestos (Bello, 2023).

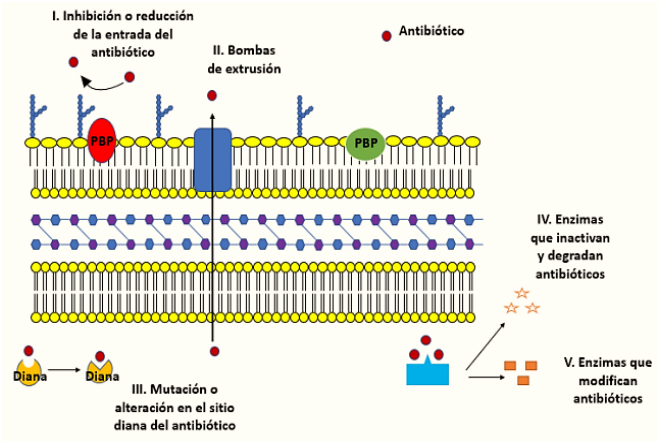
Expulsión del antibiótico por un sistema de eflujo, limitando la concentración intracelular del fármaco.

Neutralización del antibacteriano mediante enzimas que lo inactivan. Ejemplo de ello son las betalactamasas, betalactamasas de espectro extendido (BLEE).

Alteración o modificación del sitio de unión, que se traduce en una pérdida de la afinidad y, por ende, de la acción del antibiótico, o la alteración de la permeabilidad bacteriana, limitando el ingreso del fármaco.

Figura 2

Mecanismos de resistencia bacterianos más comunes frente los agentes microbianos



Nota. Tomado de Bello Brandón (2023)

El mecanismo de resistencia a los antibióticos está relacionado con la acción de los antibióticos. La inhibición de la síntesis de la pared celular, la función de los ribosomas, la síntesis de ácidos nucleicos, el metabolismo del ácido fólico y la función de la membrana celular son los principales mecanismos de acción de los antibióticos. Por lo tanto, los mecanismos de resistencia se relacionan directamente con los efectos de los antibióticos (Bello, 2023).

2.1.6.1.Mecanismos de acción

Tabla 1

Diferentes mecanismos de acción de los antibióticos.

Mecanismo de acción	Antibióticos
Inferencia en la síntesis de la pared celular bacteriana	Antibióticos betalactámicos
	Antibióticos carbapenémicos
	Glucopéptidos
Inhibición de la síntesis de proteínas	Aminoglucosidos
	Tetraciclinas
Inhibición de la síntesis de proteínas	Cloranfenicol
	Macrolidos
	Cetolido
	Lincosamida
Inhibición de la síntesis de ADN	Fluoroquinolonas
Inhibición de síntesis de ARN	Rifampicina
Alteración de la integridad de la membrana bacteriana	Polimixinas
Inhibición de la enzima dihidrofolato reductasa	Sulfonamidas, trimetoprima

Nota. Tomado de (Bello Brandón, 2023).

2.1.7. Antibióticos (mecanismo de acción)

Los ATB constituyen un grupo heterogéneo de sustancias con diferente comportamiento farmacocinético y farmacodinámico, que ejercen una acción específica sobre alguna estructura o función de la bacteria con elevada potencia biológica a bajas concentraciones y mínima toxicidad para las células (Treviño & Molina, 2022).

2.1.7.1. Podemos clasificar a los ATB según:

- **El efecto que producen en las bacterias:**
  - Antibióticos bactericidas: producen la muerte bacteriana.
  - Antibióticos bacteriostáticos: inhiben el crecimiento bacteriano.
- **El espectro de acción, es decir, las bacterias afectadas por un ATB.**
  - ATB de amplio espectro: afecta un amplio tipo de bacterias Gram (+) y Gram (-).
  - ATB de espectro reducido: afecta solamente a un grupo de bacterias Gram (+) o (-) (Treviño & Molina, 2022).

2.1.7.2. El mecanismo de acción del ATB

- Inhibición de la síntesis de la pared
- Acción sobre la membrana citoplasmática
- Inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos
- Inhibición de la síntesis proteica
- Acción sobre el metabolismo (Treviño & Molina, 2022).

2.1.7.3. Inhibidores de la síntesis de la pared bacteriana

Los Betalactámicos constituyen una familia extensa de ATB y son los más utilizados en la práctica clínica. Son ATB bactericidas y de amplio espectro. Los betalactámicos inhiben la síntesis de la pared bacteriana. El mecanismo de acción

se basa en la inhibición de la última etapa de la síntesis de la pared celular. Estos ATB se unen a enzimas conocidas como PLP (proteínas ligadoras de penicilina), necesarias para la síntesis del peptidoglucano e interrumpen la síntesis de la pared celular. Además, activan enzimas líticas (autolisinas) que llevan a la muerte bacteriana (Treviño & Molina, 2022).

2.1.7.4.Clasificación

Tabla 2

Clasificación de los antibióticos betalactámicos

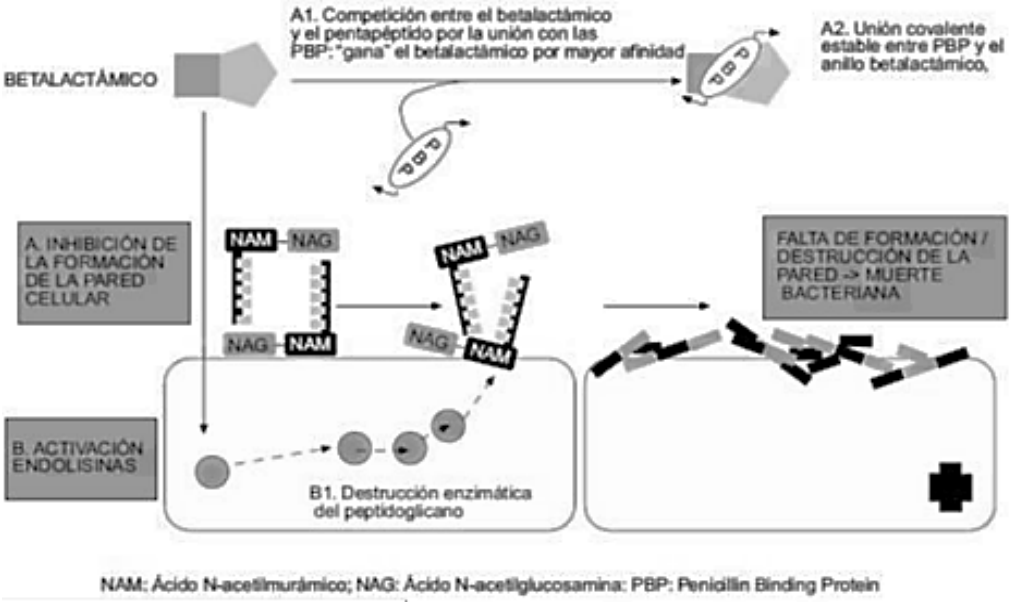
BETALACTÁMICOS		
Penicilinas	Naturales	Penicilina G sódica
		Penicilina Benzatínica, Penicilina V
	Aminopenicilinas	Ampicilina, Amoxicilina
	Antiestafilocócicas	Meticilina, Cloxacilina, Nafcilina
	Carboxipenicilinas	Ticarcilina, Carbenicilina
	Ureidopenicilinas	Piperacilina
Cefalosporinas	Cefalosporinas de 1° Generación	Cefaclor, Cefalexina, Cefalotina, Cefazolina
	Cefalosporinas de 2° Generación	Cefuroxima, Cefoxitina
	Cefalosporinas de 3° Generación	Cefotaxima, Ceftazidima, Ceftriaxona
		Cefixima
	Cefalosporinas de 4° Generación	Cefepime
	Cefalosporinas de 5° Generación	Ceftarolina, Ceftobiprole
	Nuevas Cefalosporinas	Cefiderocol
Monobactames	Aztreonam	

Carbapenemes	Imipenem, Meropenem, Ertapenem, Doripenem
Combinación de inhibidores de Betalactamasas	Ampicilina-Sulbactam Amoxicilina-Clavulánico Piperacilina-Tazobactam Ceftolozano-Tazobactam Cefatazidima-Avibactam

Nota. Tomado de (Treviño & Molina, 2022).

Figura 3

Mecanismo de acción de los betalactámicos



Nota. Tomado de Treviño & Molina (2022).

2.1.8. Amoxicilina más ácido clavulánico

2.1.8.1. Propiedades farmacodinámicas

Pertenece al grupo farmacoterapéutico de los antibióticos betalactámicos, específicamente a la combinación de penicilina con un inhibidor de betalactamasa (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

2.1.8.2 Mecanismo de acción

La amoxicilina es una penicilina semisintética perteneciente al grupo de los antibióticos betalactámicos. Su función principal consiste en inhibir enzimas esenciales conocidas como proteínas fijadoras de penicilinas (PBP), las cuales participan en la síntesis de peptidoglicanos, componentes fundamentales de la pared celular bacteriana. Al bloquear esta ruta biosintética, la estructura de la pared se debilita, lo que ocasiona la lisis y posterior muerte de la célula bacteriana. No obstante, la amoxicilina puede ser degradada por las betalactamasas producidas por ciertas bacterias resistentes, limitando así su espectro de acción frente a dichos microorganismos (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

El ácido clavulánico, por su parte, es un compuesto betalactámico estructuralmente relacionado con las penicilinas. Actúa inhibiendo las enzimas betalactamasas, lo que impide que estas inactiven la amoxicilina. Aunque por sí solo el ácido clavulánico no presenta una actividad antimicrobiana significativa, su combinación con la amoxicilina amplía el espectro de acción del antibiótico (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

2.1.8.2.Mecanismo de resistencia

Los dos principales mecanismos de resistencia de amoxicilina/ácido clavulánico son:

- Inactivación por las betalactamasas que no son inhibidas por ácido clavulánico, incluyendo las clases B, C y D.
- Alteración de las proteínas de unión a las penicilinas (PBP) que reducen la afinidad del agente bacteriano por la diana

La impermeabilidad de la bacteria o los mecanismos de bomba de expulsión pueden causar o contribuir a la resistencia bacteriana, especialmente en bacterias Gram-negativas (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

2.1.8.3.Propiedades farmacocinéticas

- **Absorción**

La amoxicilina y ácido clavulánico, se disocian completamente en solución acuosa a pH fisiológico. Ambos componentes se absorben bien y completamente mediante la administración por vía oral. La absorción de amoxicilina-ácido clavulánico es óptima cuando se administra al principio de las comidas. Tras la administración oral, la amoxicilina y el ácido clavulánico alcanzan una biodisponibilidad aproximada del 70%. Los perfiles plasmáticos de ambos componentes son similares y el tiempo para alcanzar la concentración máxima (Tmax) en cada caso es de aproximadamente 1 hora (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

- **Distribución**

Cerca del 25 % del ácido clavulánico y el 18 % de la amoxicilina presentes en plasma se encuentran unidos a proteínas. El volumen de distribución es de 0,3–0,4 L/kg para la amoxicilina y de 0,2 L/kg para el ácido clavulánico. Se han detectado concentraciones terapéuticas en diversos tejidos como piel, músculos, bilis, fluido peritoneal y pus, aunque la amoxicilina no penetra de forma efectiva en el líquido cefalorraquídeo. Ambos fármacos pueden atravesar la placenta y excretarse en pequeñas cantidades por la leche materna. No se ha observado retención tisular significativa en estudios con animales(Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

- **Biotransformación**

Una fracción de la amoxicilina se transforma en ácido peniciloico inactivo, excretado en la orina en proporciones del 10 al 25 % de la dosis administrada. El ácido clavulánico, por su parte, se metaboliza ampliamente y se elimina a través de la orina, las heces y el aire expirado en forma de dióxido de carbono (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

- **Eliminación**

La eliminación principal de la amoxicilina se realiza por vía renal, mientras que el ácido clavulánico se excreta tanto por mecanismos renales como no renales. La vida media de eliminación de la combinación es cercana a una hora, con un aclaramiento medio de aproximadamente 25 L/h en individuos sanos. En las primeras seis horas posteriores a la administración oral, entre un 60 % y 70 % de la amoxicilina y un 40 % a 65 % del ácido clavulánico se eliminan sin alteraciones por la orina. En 24 horas, la excreción puede alcanzar hasta un 85 % para la amoxicilina y un 60 % para el ácido clavulánico, siendo las primeras dos horas las de mayor eliminación (Bluefish Pharmaceuticals AB, 2023).

2.1.9. La Fitoterapia.

La fitoterapia es conocida como la práctica en la cual se utiliza plantas medicinales para la cura o prevención de enfermedades, siendo medicina tradicional empleada desde tiempos antiguos hasta la actualidad, debido a sus múltiples beneficios y baja incidencia de riesgos en la salud de las personas según criterios de la comunidad. En la pandemia de la enfermedad por coronavirus (COVID-19) la fitoterapia fue una de las prácticas mayormente mencionadas y utilizadas por la población para sobrellevar la enfermedad, tomándola como una medida de prevención ante el alto índice de contagio, formando parte del tratamiento para evitar el progreso y afectación crónica derivada de la patología, inclusive fue empleada para reforzar el sistema inmunológico y evitar el contagio (Herrera, 2023)

2.1.10. ¿Qué son los extractos vegetales?

Los extractos vegetales son preparados obtenidos a partir de materias primas vegetales mediante procesos como maceración, fermentación, infusión o decocción. Su composición química está conformada por metabolitos secundarios o compuestos fitoquímicos, cuya variedad y concentración dependen de la especie vegetal y del método de extracción. Estos compuestos pueden tener aplicaciones en la agricultura y en la salud, ya que actúan como agentes antimicrobianos, repelentes de plagas, estimulantes del crecimiento y protectores frente a factores ambientales

adversos como sequías o heladas (Mexico, La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 2022).

2.1.11. Metabolitos secundarios y su participación en el efecto antimicrobiano.

Desde tiempos antiguos, los metabolitos secundarios producidos por organismos como plantas y microorganismos han sido fuente importante de compuestos con propiedades antimicrobianas (Kuzhuppillymyal et al., 2023),

Cientos de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana han sido aislados y caracterizados a partir de cultivos in vitro (tanto de microorganismos como de plantas) en los laboratorios de investigación. Muchos de los antibióticos empleados actualmente en el área clínica son metabolitos secundarios (Kuzhuppillymyal et al., 2023).

Se estima que existen alrededor de 40 000 agentes antimicrobianos originados en microorganismos y cerca de 25 000 obtenidos de plantas. Asimismo, se han desarrollado aproximadamente 100 000 compuestos sintéticos y semisintéticos. Sin embargo, el proceso de descubrimiento y validación de un nuevo agente antimicrobiano continúa siendo prolongado, pues implica etapas de aislamiento, purificación, ensayos in vitro e in vivo y pruebas clínicas exhaustivas para confirmar su seguridad y eficacia (Kuzhuppillymyal et al., 2023).

2.1.12. MATICO (*Piper Aduncum*)

2.1.12.1. Características morfológicas

Piper aduncum L. es un arbusto perenne que puede alcanzar hasta aproximadamente cinco metros de altura. Presenta un tallo leñoso y ramificado, con hojas alternas, simples, pecioladas y de textura coriácea. Su inflorescencia se dispone en espigas axilares o terminales, y las flores son pequeñas, sésiles y poco perceptibles a simple vista debido a su tamaño reducido (Pautrat et al., 2021)

2.1.12.2. Ubicación geográfica

Ore Según Ore et al. (2021), el matico es una planta originaria de las regiones de Chile, Argentina y Perú. En este último país, el término "matico" se asocia principalmente a la especie *Piper angustifolium* (*Piper aduncum*), la cual crece de forma silvestre en amplias zonas de la selva peruana.

En Chile, la especie *B. globosa* conocida como matico, se desarrolla de manera natural en cerros y quebradas, llegando a prosperar hasta los 2.000 metros sobre el nivel del mar. En el territorio peruano, *Piper aduncum* se distribuye en diversos departamentos, entre ellos Amazonas, Ayacucho, Loreto, Madre de Dios, Puno, San Martín, Ucayali, Cajamarca, Lambayeque, Pasco y Piura. Además, puede encontrarse en zonas interandinas a altitudes que oscilan entre los 2.600 y 2.700 m s. n. m., particularmente en Cajamarca, Cusco, Junín, Lima y Huánuco.

La especie *B. globosa* se caracteriza por conservar su follaje verde durante la mayor parte del año y alcanzar hasta cuatro metros de altura. Posee tallos subleñosos y ramificados desde la base, hojas lanceoladas de hasta 20 cm de longitud, color verde oscuro y superficie rugosa. Sus flores son pequeñas, hermafroditas y amarillas, agrupadas en inflorescencias esféricas que pueden medir cerca de dos centímetros. La floración se presenta principalmente entre la primavera y el verano, etapa en la cual libera diminutas semillas que se dispersan fácilmente con el viento, facilitando su reproducción natural (Ore et al., 2021).

2.1.12.3. Ubicación taxonómica

Tabla 3

Ubicación taxonómica del Piper Aduncum

Reino	*Plantae*
Subreino	*Tracheobionta*
Supervisión	*Spermatophyta*
División	*Magnoliophyta*
Clase	*Magnoliopsida "Dicotyleoneae"*
Orden	*Piperales*
Familia	*Piperaceae*
Genero	*Piper*
Especie	*Aduncum*

Fuente: (Botanical Online, 2025)

2.1.12.4. Características

- **Usos**

El *Piper aduncum* posee múltiples aplicaciones tradicionales, principalmente en el tratamiento de afecciones respiratorias debido a sus propiedades antiinflamatorias, antitusígenas y antisépticas. También se utiliza para aliviar trastornos gastrointestinales como diarreas y disenterías, así como para desinfectar heridas cutáneas y prevenir infecciones microbianas, especialmente en niños con cuadros de desnutrición. Además, se le atribuyen efectos astringentes, siendo útil para detener hemorragias y favorecer la cicatrización de úlceras. Diversos usos empíricos destacan su eficacia en el alivio de náuseas, molestias estomacales, vómitos y enfermedades respiratorias tales como resfriados, bronquitis y neumonías (Pautrat et al., 2021).

- **Propiedades medicinales**

Piper aduncum presenta una amplia gama de propiedades biológicas que respaldan su uso medicinal. Entre ellas se encuentran sus efectos antioxidantes, hepatoprotectores, antialérgicos, antitrombóticos, anticancerígenos, antibacterianos, antifúngicos y diuréticos. Gracias a esta versatilidad terapéutica, es considerada una planta de alto potencial en medicina natural (Pautrat et al., 2021).

- **Hábitat**

En Perú se le puede encontrar en las regiones de la Costa, Sierra y Selva, desde los 0 hasta los 3000 msnm. Y predomina en la Amazonia y sobre todo en los departamentos de Amazonas, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, Lambayeque, Lima, Loreto, Madre de Dios, Pasco, Piura, San Martín y Ucayali (Pautrat et al., 2021).

Asimismo, se encuentra en un rango geográfico que se extiende desde Perú hasta Chile, con diferentes variantes del género. Sin embargo, la especie *Piper aduncum* es la más frecuente en las zonas selváticas peruanas (Ore et al., 2021).

- **Efecto antiséptico**

En Ecuador, especialmente en las zonas orientales, el matico ha sido tradicionalmente utilizado con fines terapéuticos para tratar heridas cutáneas. Su aplicación ha demostrado eficacia en la eliminación de microorganismos patógenos, favoreciendo la cicatrización y reduciendo la carga bacteriana en las lesiones (Ore et al., 2021).

De la misma forma se han presentado efectos sobre los alimentos por lo que es efectiva en el control de patógenos presentes en los mismos un ejemplo de ello es el control de la *E. Colie*, *Listeria, S. Aureus,* y varias bacterias oportunistas (Ore et al., 2021).

- **Efecto antidiarreico**

El uso tradicional de esta planta incluye el tratamiento de trastornos digestivos, principalmente diarreas y disenterías. Además, se le atribuyen propiedades antiespasmódicas y analgésicas que contribuyen a reducir el dolor abdominal y las molestias intestinales asociadas a estas patologías (Ore et al., 2021).

- **Efecto antifúngico**

Las fungistáticas de los metabolitos del matico se explican por las propiedades lopifilicas que poseen que tienen la capacidad de interrumpir en la membrana celular y destruir la mitocondria fúngica, de la misma forma de manera ancestral se han utilizado para el tratamiento de hongos sobre la piel (Ingaroca et al., 2019).

- **Efecto cicatrizante**

La presencia de TANITOS dentro de la composición de la plata podemos presenciar una acción cicatrizante especialmente derivada desde el punto de poder metabolizar las proteínas presentes en el tejido externo de la piel, de la misma forma generando compuestos fenólicos que se derivan del ácido gálico los mismos que generan ésteres y azúcar, los que cumplen una función protectora contra diversos microorganismos patógenos (Ore et al., 2021).

- **Efectos antiulcerosos**

Los efectos sobre las ulceras se han evidenciado en la piel y a su vez sobre las ulceras estomacales, esto acompañado de los efectos antisépticos que presenta esta planta ayuda al combate de estas lesiones (Ore et al., 2021).

2.1.13. CHILCA (*Baccharis Latifolia*)

2.1.13.1. Características y ubicación geográfica

La *Baccharis latifolia*, conocida comúnmente como chilca, pertenece a un amplio género de la tribu *Astereae* (familia *Asteraceae*), que agrupa alrededor de quinientas especies distribuidas a lo largo del continente americano, desde Estados Unidos hasta las regiones australes de Argentina y Chile. En la zona andina, esta especie se desarrolla a elevaciones comprendidas entre los 1.300 y 4.300 metros sobre el nivel del mar, abarcando desde el altiplano del sur del Perú y la cuenca del lago Titicaca hasta el sur de Argentina.

Prefiere hábitats característicos de los Andes, como matorrales y laderas de montaña, destacándose por su notable capacidad de adaptación y colonización en terrenos áridos o de gran altitud. En Bolivia, se encuentra tanto en áreas montañosas como en los valles secos y regiones húmedas de los Yungas. Esta amplia distribución ha permitido que el género *Baccharis* incluya una gran diversidad morfológica, que abarca desde hierbas perennes y arbustos bajos hasta lianas y pequeños árboles (Valenzuela, 2023).

2.1.13.2. Ubicación taxonómica.

Tabla 4

Ubicación taxonómica del Baccharis Latifolia

Reino	*Vegetal*
Subreino	*Espermatófitas*
División	*Angiospermas o Anthophyta*
Clase	*Dicotiledóneas*
Orden	*Campanulales*
Familia	*Asterácea o compuesta*
Genero	*Baccharis*
Sub grupo	*Molina*
Especie	*Latifolia*

Fuente: (Valenzuela, 2023)

2.1.13.3. Características morfológicas

La mayoría son leñosas, y se las puede clasificar en tres grandes grupos: las "chillcas" que se caracterizan por ser arbustos altos de hojas anchas, bordes aserrados, delgadas hasta levemente duras, como es el caso de *Baccharis latifolia*, las "tholas", que son arbustos pequeños, leñosos, resinosos de hojas pequeñas y duras, generalmente con pocos dientes, muy ramificados (Valenzuela, 2023).

2.1.13.4. Usos

- **Actividad antiinflamatoria**

La presencia de flavonoides y triterpenos en la planta actúan inhibiendo la acción de la prostaglandina sintetasa (PTGS1) disminuyendo la concentración de prostaglandinas, y otras enzimas como la ciclooxigenasa COX 1 y COX 2, óxido nítrico NO y factor de necrosis tumoral TNF (Sandoval, 2021).

- **Actividad antioxidante**

Los antioxidantes son moléculas químicas complejas capaces de neutralizar radicales libres previniendo el envejecimiento y muerte celular que pueden

desencadenar enfermedades degenerativas y cáncer. Están presente en grandes concentraciones en las plantas tanto en hojas y frutos especialmente en cítricos (Sandoval, 2021).

- **Actividad antibacterial**

La investigación realizada en la Universidad Estatal de Bolívar ha demostrado que los extractos realizados de diferentes partes de la chilca han resultado efectivos antibacterianos, esto dependiendo de la parte de la planta que ha sido empleada, se ha empleado frente a *E. coli* obteniendo un halo de inhibición que ha variado entre los 29.5mm y los 3.4mm (Bayas et al., 2020).

- **Fluidos supercríticos.**

Esta técnica también es conocida como la de solventes verdes, debido a que el proceso por el cual se obtienen los extractos los solventes no altera su estructura y de la misma forma no modifican el extracto, de manera precisa la forma en la que se extraen los principios bioactivos en este caso del matico en con la alteración de la densidad que se verá alterada por la presión e incluso por la temperatura, esto da lugar a la separación del producto de la pulpa (materia solida), esto tiene evidencia de su aplicación a mediados de los 70's pues se ha presenciado la extracción por esta técnica en cafeterías que lo apocaban sobre los granos de café (Casanova & Parrales, 2008).

2.1.13.5. Generalidades

- **Temperatura Critica**

"Es una temperatura por encima de la cual no se produce la licuefacción del líquido (cambio de estado de gas a líquido) por mucho que se aumente la presión" (Arizmendi, Muñoz, & Vazquez, 2019).

- **Presión critica**

"Es una presión por encima de la cual no tendrá lugar la vaporización (cambio de estado de líquido a gas) por mucho que se aumente la temperatura" (Arizmendi, Muñoz, & Vazquez, 2019).

- **Etapas de Extracción**

La extracción de fluidos supercríticos se basa en la ejecución de 4 pasos que son:

Presurización: Se eleva la presión por encima del punto crítico de la sustancia que se empleará como solvente en este caso CO2 (73.76 bar) para ejecutar el primer paso.

Ajuste de temperatura: Dependiendo del solvente se deberá incrementar la temperatura por medio de cualquiera de los métodos físicos o mecánicos con el fin de llevar la temperatura al punto crítico del solvente que en este caso para el CO2 es de 30.95ºC.

Extracción: En este punto el solvente (CO2) se encuentra en contacto con el soluto de interés lo cual nos va a permitir exponerlo para su posterior separación.

Separación: En este paso se realiza una descompresión del solvente que debe estar por debajo de la presión critica para que con ello se libere del soluto (Román et al., 2016).

Para la ejecución de este proceso existen 2 métodos que se pueden ejecutar "dinámica y estática"

- **Dinámica**

Este principió se basa en que el cilindro en el que ejecuta el proceso por el cual se realiza la extracción la válvula de ingreso del solvente y la válvula de salida se dejan abiertas con esto permitiendo el libre paso del fluido supercrítico durante el todo el tiempo de extracción (Román et al., 2016).

- **Estática**

El método estático se basa en realizar el proceso de extracción con el cilindro cerrado es decir que mientras es presurizado se cierra la válvula de salida hasta completar el proceso y al finalizar se abre y se permite el paso de los fluidos con los compuestos al sistema colector para su posterior separación (Román et al., 2016).

- **Ventajas y desventajas de la extracción por fluidos supercríticos.**

Tabla 5

Ventajas y desventajas de los fluidos supercríticos

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Por la densidad de los solventes les es más fácil ingresar en el soluto para extraer los componentes bioactivos, y resultando en una extracción rápida.	Debido a la complejidad del proceso se debe someter a grandes temperaturas dependiendo del solvente.
Para su disolución se deben controlar la presión y también la temperatura.	Alto costo de ejecución por el valor del equipo y sus componentes además del mantenimiento y reemplazo de partes.
En el proceso de debe hacer pasar fluido fresco constantemente.	Requiere re circulación para reducir costos de material y energéticos.
Los fluidos supercríticos se pueden obtener fácilmente tras la despresurización.	Se pueden disolver pocos compuestos no polares.
Los compuestos termolábiles se pueden extraer sin alteraciones debido a las bajas temperaturas empleadas.	Al usar el dióxido de carbono se pueden presentar alteraciones en la polaridad lo que provoca que el solvente se quede en el soluto y requiera una separación adicional.
Es ecológica pues sus solventes no degradan el medio ambiente y sus solventes pueden ser reutilizados disminuyendo los desperdicios.	

Fuente (Reyes, 2018)

2.1.14. Soxhlet

La extracción de muestras sólidas con disolventes, generalmente conocida como extracción, es un líquido o lixiviación, es un método utilizado en la separación de analitos de muestras sólidas. Los métodos tradicionales de extracción sólido líquido pueden dividirse en dos grandes grupos (Rodríguez, 2021).

- Métodos que necesitan un aporte de calor, Soxhlet. Soxtec ® System HT y extracción Soxhlet asistida por extracción Soxhlet asistida por microondas. microondas.
- Métodos que no requieren un aporte de calor: agitación con ultrasonidos y agitación simple.

La extracción Soxhlet ha sido (y en muchos casos, continúa siendo) el método estándar de extracción de muestras sólidas más utilizado desde su diseño en el siglo pasado, y actualmente, es el principal método de referencia con el que se comparan otros métodos de extracción (Rodríguez, 2021).

2.1.14.1. Ventajas:

- La muestra está en contacto repetidas veces con porciones frescas de disolvente.
- La extracción se realiza con el disolvente caliente, así se favorece la solubilidad de los analitos.
- No es necesaria la filtración después de la extracción.
- La metodología empleada es muy simple.
- Es un método que no depende de la matriz.
- Se obtienen excelentes recuperaciones, existiendo gran variedad de métodos oficiales cuya etapa de preparación de muestra se basa en la extracción con Soxhlet (Rodríguez, 2021).

2.1.14.2. Desventajas:

- El tiempo requerido para la extracción normalmente está entre 6-24 horas.
- La cantidad de disolvente orgánico (50-300 ml)
- La descomposición térmica de los analitos termolábiles, ya que la temperatura del disolvente orgánico está próxima a su punto de ebullición.
- No es posible la agitación del sistema, la cual podría acelerar el proceso de acelerar el proceso de extracción. extracción.
- Es necesaria una etapa final de evaporación del disolvente para la concentración de los analitos.
- Esta técnica no es fácilmente automatizable.

2.1.14.3. Procedimiento:

- Secar un matraz Erlenmeyer, dentro de este pesar aproximadamente 1.5 g de muestra de leche en polvo
- Agregar 10 ml de agua y agitar hasta la dispersión total de la muestra.

- Agregar a la porción 1.5 ml de la solución de hidróxido de amonio al 25%
- Agitar suavemente al recipiente o al matraz de extracción sobre el baño maría a 70 °C por 15 min y luego enfriarlo bajo un chorro de agua corriente.
- Añadir 10 ml de alcohol etílico y mezclar el alcohol etílico y mezclar el contenido, en forma su contenido, en forma suave y completa ave y completa manteniendo abierto el matraz
- Agregar 25 ml de éter dietílico
- Cerrar el matraz de extracción humedeciéndolo previamente el cuello de la tapa y agitarlo energéticamente, invirtiéndolo repetidamente durante un minuto, si es necesario, enfriarlo bajo chorro de agua.
- Evaporar o destilar la mayor cantidad de solvente posible.

(Rodríguez, 2021)

CAPÍTULO III

3.1. MARCO METODOLOGICO

3.2. Ubicación de la investigación.

- **Localización de la investigación.**

La presente investigación se llevó a cabo en los laboratorios del centro de investigación y vinculación de la Universidad Estatal de Bolívar ubicada en el Cantón Guaranda, en el sector de Laguacoto II Km 1 $^{1}/_{2}$ vía San Simón.

- **Situación geográfica y edafoclimática**

El cantón Guaranda, se sitúa en la región central del país, caracterizándose por su variada altitud que oscila entre los 1500 y 4000 metros sobre el nivel del mar; presenta una diversidad climática significativa, con temperaturas promedio que varían entre 12°C y 18°C.

- **Zona de vida**

El cantón Guaranda, se encuentra en la zona de vida denominada como Bosque Montano Bajo según la clasificación de Leslie Holdridge. La vegetación en estas áreas es diversa, incluyendo grandes árboles, un denso sotobosque y abundantes plantas epífitas en el Bosque Montano Bajo, con precipitaciones anuales entre 500 mm y 2000 mm.

3.3. Metodología.

3.3.1. Material experimental.

- Extracto de chilca
- Extracto de matico.
- Aislados de *E. Coli ATCC 52922*.
- Discos de Amoxicilina + Ácido clavulánico.

3.3.2. Factores en estudio.

Factor (a):

a_1: Aislados de Echerichia Coli ATCC 25922.

Factor (b)

(b_1): Extracto de Chilca.

(b_2): Extracto de Matico.

(b_3): Extracto de Matico + Extracto de Chilca.

(b_4): Amoxicilina + ácido clavulánico (Testigo).

3.3.3. Tratamientos.

Tabla 6

Tratamientos en estudio

Trat	Código	Descripción
T1	**a_1 b_1**	Aislados de *E. coli* + Extracto de Matico
T2	**a_1 b_2**	Aislados de *E. coli* + Extracto de Extracto de Chilca
T3	**a_1 b_3**	Aislados de *E. coli* + Combinación de extracto (Matico y Chilca)
T4	**a_1 b_4**	Aislados de *E. coli* + Amoxicilina + ácido clavulánico (Testigo)

Nota: El tratamiento 4 es el testigo.

3.3.4. Descripción técnica del ensayo.

Tabla 7

Descripción técnica del ensayo.

Numero de tratamientos	4
Numero de repeticiones	3
Número de animales por unidad experimental	50 µL
Numero de testigos	1
Número total unidades experimentales	12

3.3.5. Tipo de diseño experimental o estadístico.

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) unifactorial, con el fin de reducir el sesgo y permitir una comparación directa entre los tratamientos bajo condiciones controladas de laboratorio.

3.3.6. Tipos de análisis.

En la presente investigación se aplicaron diversos análisis estadísticos y químicos que permitieron evaluar y comparar de manera rigurosa el efecto de los extractos de Matico y Chilca y su combinación. Para iniciar, se realizó un análisis bromatológico que nos permitirá identificar componentes como proteínas, fibra, carbohidratos y cenizas, que pueden influir en la actividad antimicrobiana de los extractos, además también aporto datos relevantes para correlacionar la composición química con los resultados obtenidos en los antibiogramas.

Se verifico el cumplimiento del supuesto de normalidad para los datos obtenidos mediante la prueba de Shapiro-Wilk además, se evaluó la homogeneidad de las varianzas con la prueba de Levene, indispensable para garantizar la validez del análisis de varianza (ANOVA) bajo el Diseño Completamente al Azar (DCA).

Posteriormente, se realizó un análisis unifactorial DCA mediante ANOVA, permitiendo identificar si existen diferencias significativas entre los tratamientos evaluados y el tratamiento testigo (Amoxicilina + ácido clavulánico (Testigo)). En caso de obtener resultados significativos, se aplicó la prueba de comparaciones múltiples de Tukey, que permite identificar específicamente cuáles tratamientos presentan diferencias significativas y las agrupará de acuerdo al desempeño de cada tratamiento para evitar el crecimiento de *E. Coli*.

Complementariamente, se empleó medidas de tendencia central como la media y el promedio, para describir de manera sintética los datos obtenidos, facilitando la generación de gráficos ilustrativos que permio una visualización clara y comprensible de los resultados. Asimismo, se utilizó la correlación de Pearson para evaluar las relaciones entre los halos de inhibición y las características químicas obtenidas de los extractos, lo que aportará información sobre la posible

contribución de ciertos compuestos bioactivos en la actividad antimicrobiana observada.

Finalmente, se llevó a cabo un análisis cromatológico para identificar y caracterizar los compuestos bioactivos presentes en los extractos de Matico y Chilca. Este análisis es esencial para comprender los mecanismos químicos que subyacen a los efectos antimicrobianos de las plantas estudiadas y para correlacionar estos hallazgos con los resultados obtenidos en las pruebas bacteriológicas.

3.3.7. Métodos de evaluación y datos a tomarse:

- **Diámetro de los Halos de Inhibición (mm)**

El diámetro de los halos de inhibición es la principal variable dependiente en esta investigación, ya que representa la zona libre de crecimiento bacteriano que se forma alrededor del tratamiento aplicado en las placas de cultivo de *Escherichia coli.* Este valor es medido en milímetros utilizando una regla de precisión, garantizando exactitud en cada registro, este dato refleja directamente la potencia antimicrobiana de cada tratamiento.

- **Compuestos químicos bioactivos de los extractos.**

Los compuestos bioactivos identificados en los extractos representan una variable cualitativa y cuantitativa fundamental para la investigación. Se registraron los tipos de compuestos presentes y su concentración (mg/L). Estos datos obtenidos mediante análisis cromatológico (HPLC o GC-MS). La presencia y concentración de compuestos específicos permitió correlacionar la composición química de los extractos con la efectividad antimicrobiana medida en los halos de inhibición, aportando evidencia sobre los mecanismos químicos responsables de su actividad.

- **Composición Bromatológica de la Materia Prima Vegetal**

La composición bromatológica de la materia prima vegetal sirvió para caracterizar los extractos de Matico (*Piper aduncum*) y Chilca (*Baccharis latifolia*). Esta variable incluye parámetros como contenido de humedad, proteína, lípidos, fibra, carbohidratos y cenizas, los datos se expresarán en porcentaje (% peso/peso).

Tabla 8

Parámetros y métodos del examen Bromatológico

Parámetro	**Método:**
Determinación de humedad:	Secado en estufa a 130°C.
Cenizas:	Calcinación en mufla a 550°C.
Fibra cruda y carbohidratos:	Método gravimétrico.

Fuente: (Barreto, 2021)

3.3.8. Manejo del experimento.

3.3.8.1. Bromatología.

Este análisis tuvo como finalidad caracterizar la composición química de las plantas utilizadas, evaluando parámetros fundamentales para correlacionarlos con su potencial antimicrobiano.

- **Humedad**

  - Las hojas secas de Matico y Chilca fueron trituradas.
  - Se pesaron 3 g de muestra en cápsulas previamente taradas.
  - Las cápsulas se colocaron en una estufa a 130 °C por una hora.
  - Posteriormente, se enfriaron en desecador por 50 minutos y se pesaron en balanza analítica.
  - El porcentaje de humedad se calculó por diferencia de peso antes y después del secado.

- **Ceniza**

  - Colocar en la mufla 6 crisoles vacíos.
  - Una vez encendida se deberá dejar por una hora.
  - Dejar enfriar en el desecador por al menos 50 minutos.
  - Pesar el crisol vacío.
  - Pesar 1g de muestra triturada en cada crisol 3 crisoles por muestra.
  - Colocar en el desecador y posterior mente colocar en la mufla.
  - Encender la mufla y dejar incinerar por 8 horas.

- Dejar enfriar por 1 hora en el desecador.
- Pesar los crisoles con ceniza en la báscula analítica.

- **Fibra**

  - Se colocan 6 papeles filtro 3 por muestra en la estufa por 1 hora.
  - Posteriormente se enfrían en el desecador por al menos 50 minutos.
  - Se toma 6 matraces Helenmeyer de 1000 ml y se coloca sobra la báscula analítica la misma que se encera y se coloca 0.5g por cada muestra.

- **Primera digestión.**

  - Se colocan 100 ml de ácido sulfúrico al 12%
  - Dejar hervir por 1 hora
  - Colocar de poco en poco sobre los embudos de cristal el filtro de papel.
  - Posterior ir agregando agua destilada al matraz y hacer hervir para seguir limpiando el matras hasta completar 400ml
  - Retirar el papel filtro con la muestra con mucho cuidado y colocar la muestra de nuevo en el matraz para la segunda digestión.

Segunda digestión.

- Se colocan 100 ml de hidróxido de sodio al 12%
- Dejar hervir por 1 hora
- Colocar de poco en poco sobre los embudos de cristal el filtro de papel.
- Posterior ir agregando agua destilada al matraz y hacer hervir para seguir limpiando el matras hasta completar 800ml
- Colocar los papeles filtro con la muestra en la estufa por una hora.
- Posteriormente colocar el papel filtro seco en el desecador.
- Finalmente pesamos cada papel filtro con la muestra.

- **Extracción por fluidos supercríticos**

Se realizó en los laboratorios de experimentación de la Universidad Estatal de Bolívar en donde se solicitó el espacio en la agenda para el uso del equipo, lo que

se ha ejecutado por los técnicos responsables del equipo y se nos entregó los extractos para realizar la siguiente etapa del experimento, para lo cual hemos de entregar los materiales consumibles que requiera nuestra investigación.

En el presente experimento se realizó el extracto basándose en el método empleado por Gönül Serd por muestra en la extracción de "*Punica granatum L.",* dentro de los parámetros que se mencionan se debe tomar las muestras vegetales frescas, y seguiremos esta serie de pasos.

- Tomamos las hojas.
- La temperatura a la que se secó el material oscilará 40ºC se colocó en una base metálica la cual fue expuesta al aire seco del deshidratador.
- Se evito la humedad para que el proceso no se vea comprometido por el que la muestra no se vea contaminada por hongos ni se descomponga.
- De igual manera se conservó la muestra en un rango aproximado de humedad relativa entre el 4% y 8%.
- Para ello se emplean fundas metalizadas con cierre hermético.

- **Pulverizar las hojas secas.**

La pulverización se la realizo mediante la fricción en un matraz o a su vez utilizar maquinaria llamada pulverizador, podremos obtener un efecto similar con una licuadora. De igual manera hay que tener precauciones de contaminación de la muestra con agua u algún otro material que altere el extracto o la naturaleza del experimento.

De igual forma su conservación deberá ser en un envase hermético, se conservarán los mismos parámetros de almacenamiento que se realizó al momento de secar las hojas.

Preparación de la muestra vegetal

- Se recolectaron hojas frescas de Matico y Chilca en óptimo estado fisiológico.

- Se realizó un secado a 40 °C con aire forzado en deshidratador.
- Una vez deshidratadas, las hojas fueron pulverizadas en molino de cuchillas hasta obtener un polvo homogéneo.
- Las muestras se almacenaron en fundas metalizadas herméticas, protegidas de la luz, humedad y contaminación.

Carga del equipo

- Se pesaron 300 g de cada muestra en polvo.
- En el fondo del vessel del equipo se colocó una capa de lana de polipropileno.
- Encima se añadió la muestra vegetal, seguida de otra capa de lana, sellando el sistema.

Parámetros de extracción

- **Presión:** 300 bar
- **Temperatura:** 50 °C
- **Flujo de CO_2:** 1–1.5 L/h
- **Duración:** Hasta alcanzar volumen de extracto requerido, para su conservación de los extractos, se lo realizara en material limpio. (Gönül, 2023)

Se espera obtener la mayor cantidad de extracto con estos parámetros y al ser trabajado con CO2 se asimila que su nivel de contaminación será mínimo.

3.3.8.2. Análisis cromatográfico (GC-MS)

Con el objetivo de identificar los compuestos químicos presentes en los extractos obtenidos, se realizó una cromatografía de gases acoplada a espectrometría de

masas (GC-MS). Este análisis se llevó a cabo con el acompañamiento de un técnico del área de biomasa.

- **Pasos del análisis:**

  - Se entregaron los extractos en viales ámbar correctamente etiquetados.
  - Se colocaron 22 µL de muestra en el vial de análisis.
  - Se añadieron 1000 µL de hexano como solvente para disolver los compuestos, dado que los extractos tenían consistencia similar a cera.
  - Se colocó el vial en el carrusel automático del cromatógrafo.

- **Parámetros del equipo:**

  - **Columna:** HP5-5MS
  - **Gas portador:** Helio, flujo de 1.5 mL/min
  - **Modo de inyección:** Split (relación 40:1)
  - **Temperatura del inyector:** 250 °C
  - **Temperatura del horno:**
    - **Inicio:** 60 °C
    - Aumento a 100 °C a razón de 3 °C/min
    - Luego a 160 °C y se mantiene por 5 min
    - Finalmente, a 280 °C a razón de 5 °C/min y se mantiene
  - **Línea de transferencia:** 280 °C
  - **Rango de masas:** 35–550 amu (modo scan)

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Interpretación de resultados

4.1.1. Resultados del análisis bromatológico

Tabla 9

Resultados del análisis bromatológico

Código laboratorio	Muestra	Parámetro	Método	Resultado
INV707	**Hojas de matico**	Fibra	WEENDE	23,83%
		Humedad	AOAC 925.10	9,21%
		Ceniza	AOAC 923.03	15,54%
INV309	**Hojas de chilca**	Fibra	WEENDE	17,35%
		Humedad	AOAC 925.10	9,11%
		Ceniza	AOAC 923.03	8,97%

El análisis bromatológico permitió caracterizar la composición química proximal de las hojas secas de *Piper aduncum* (matico) y *Baccharis latifolia* (chilca), obtenidas mediante el método Weende y protocolos AOAC estandarizados.

En términos comparativos, el matico presentó un mayor contenido de fibra (**23,83%**) y cenizas (**15,54%**) en relación con la chilca, que registró valores de **17,35%** y **8,97%**, respectivamente. El contenido de humedad se mantuvo prácticamente constante en ambas especies (**9,21% y 9,11%**), lo que indica condiciones de almacenamiento y secado homogéneas.

El alto contenido de fibra en *Piper aduncum* sugiere una estructura foliar con mayor proporción de tejidos lignificados, lo que influye en la retención de compuestos bioactivos, especialmente los de naturaleza lipofílica, y en la

estabilidad física del material vegetal durante la conservación (Costa et al., 2021). Por su parte, el elevado porcentaje de cenizas refleja una alta concentración de minerales y oligoelementos, como potasio, calcio y magnesio, que pueden intervenir en rutas biosintéticas responsables de la producción de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (García-Viguera et al., 2022; Wang et al., 2023).

En el caso de *Baccharis latifolia*, su menor contenido de fibra y cenizas podría facilitar una liberación más rápida de compuestos polares, como flavonoides y ácidos fenólicos, durante la extracción, lo que favorecería una acción antimicrobiana más inmediata. Este comportamiento coincide con lo descrito por Cueva-Castillo et al. (2023), quienes reportaron que plantas con menor estructura lignocelulósica presentan mayor disponibilidad de metabolitos hidrosolubles en ensayos in vitro.

Estos resultados son coherentes con lo expuesto por Vega-Castro et al. (2021), quienes identificaron que la composición físico-química de la hoja influye directamente en la eficacia antimicrobiana, no solo por la cantidad de compuestos presentes, sino por la facilidad con que son liberados y asimilados en el medio de acción.

4.1.2. Inhibición bacteriana

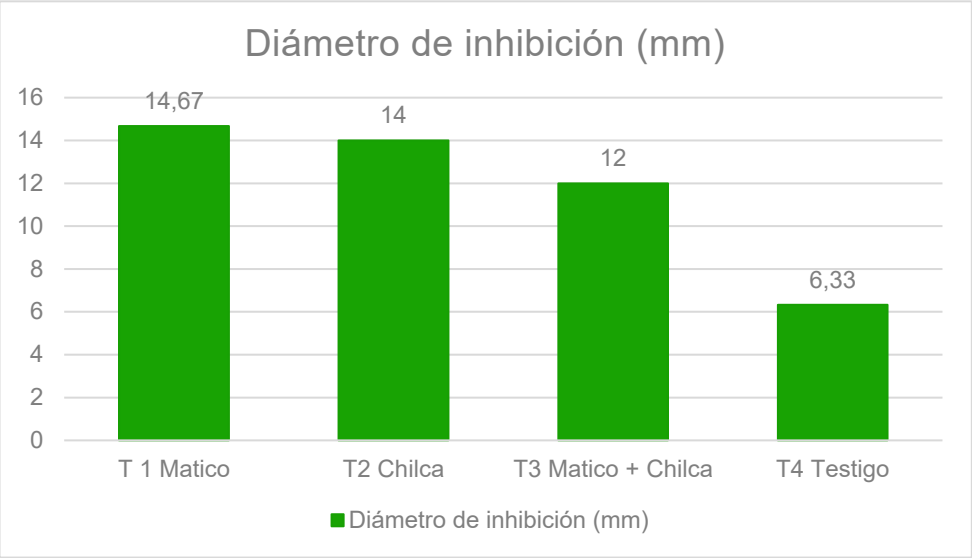
Tabla 10

Resumen estadístico de los diámetros de inhibición

Trata-miento	Media (mm)	Desviación están-dar	Mínimo (mm)	Máximo (mm)
1	14,67	0,58	14	15
2	14	0	14	14
3	12	0	12	12
4	6,33	5,51	0	10

Figura 4

Inhibición bacteriana por tratamiento



El análisis de los diámetros de inhibición mostró que el tratamiento T1 (Matico) alcanzó un promedio de **14,67 ± 0,58 mm**, seguido por T2 (Chilca) con **14,00 ± 0,00 mm** y T3 (Matico + Chilca) con **12,00 ± 0,00 mm.** El tratamiento testigo T4 presentó un valor promedio significativamente inferior (**6,33 ± 5,51 mm**), con una variabilidad marcada debido a un caso sin inhibición (0 mm).

Estos resultados sugieren que los extractos vegetales, en especial el de Matico y el de Chilca, poseen una capacidad antimicrobiana comparable e incluso superior al tratamiento farmacológico en las condiciones evaluadas. La ausencia de halo en uno de las repeticiones del testigo evidencia una posible resistencia de la cepa frente a la combinación de amoxicilina y ácido clavulánico, hecho que coincide con lo reportado por Palomino-Castellano et al. (2023) sobre la creciente resistencia de *E. coli* a antibióticos β-lactámicos en cepas clínicas.

Estudios recientes respaldan esta tendencia. Según Farías et al. (2022), los extractos de *Piper aduncum* exhiben halos de inhibición de 12 a 16 mm frente a cepas de *E. coli*, atribuidos a la presencia de flavonoides y aceites esenciales con actividad bactericida. De igual forma, Torres et al. (2021) reportaron que extractos de *Baccharis latifolia* logran inhibiciones de hasta 14 mm frente a enterobacterias, lo cual coincide estrechamente con los valores aquí obtenidos.

4.1.3. Resultados análisis cromatográfico

- **Cromatografía del extracto de Matico SFE**

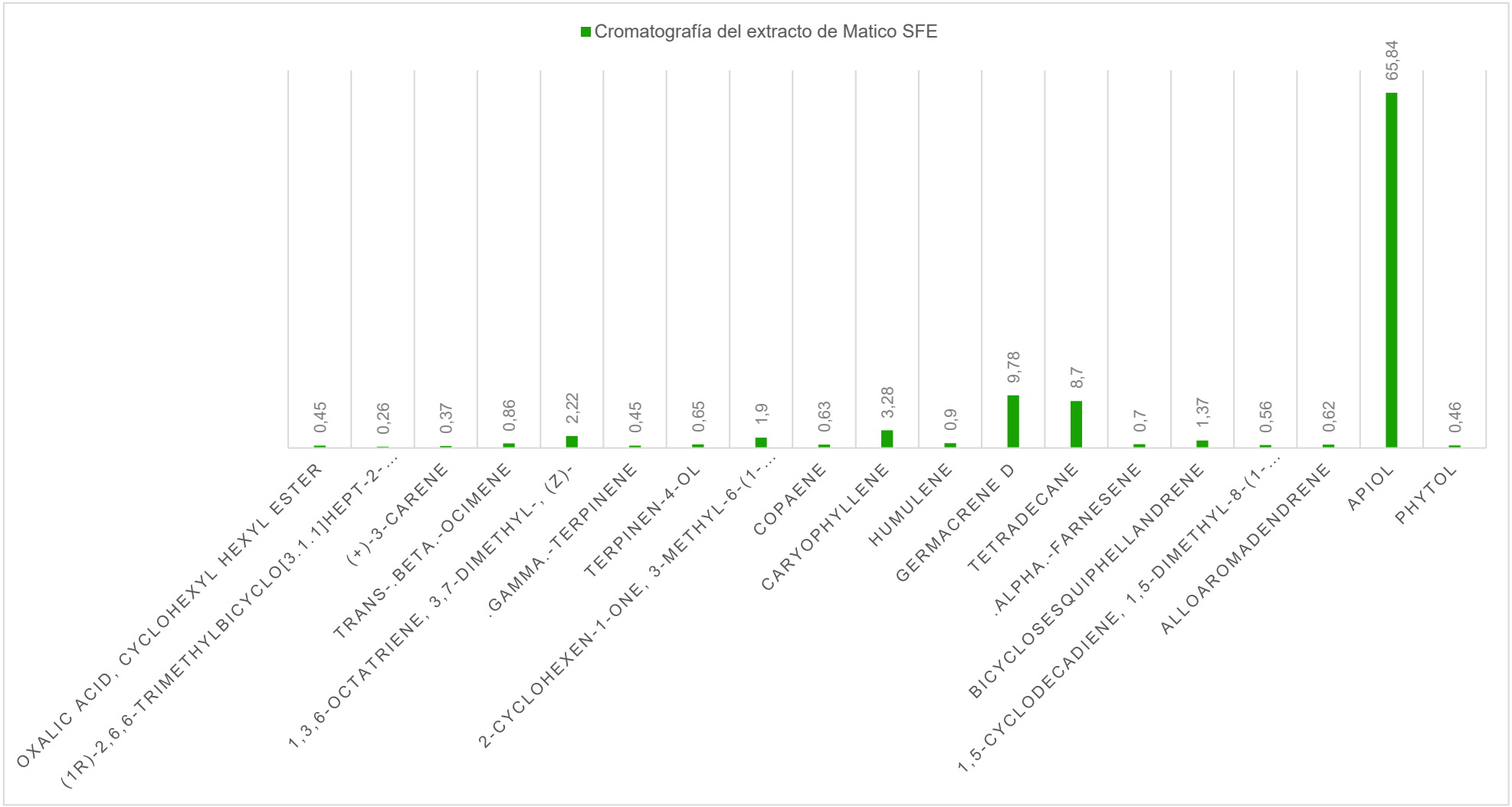
Tabla 11

Cromatografía del extracto de Matico SFE

Pk#	RT	Area %	Compuesto	Sinonimo
1	6,094	0.45	Oxalic acid, cyclohexyl hexyl ester	Oxalic acid, cyclohexyl hexyl ester
2	6,342	0.26	(1R)-2,6,6-Trimethyl-bicyclo[3.1.1]hept-2-ene	1R-α-Pinene
3	7,945	0.37	(+)-3-Carene	(+)-3-Carene
4	8,257	0.86	trans-.beta.-Ocimene	trans-β-Ocimene
5	8,615	2.22	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	cis-β-Ocimene
6	8,983	0.45	.gamma.-Terpinene	γ-Terpinene
7	13,607	0.65	*Terpinen-4-ol*	*Terpinen-4-ol*
8	17,167	1.90	2-Cyclohexen-1-one, 3-methyl-6-(1-methylethyl)-	3-Carvomenthenone
9	23,719	0.63	*Copaene*	*Copaene*
10	26,110	3.28	Caryophyllene	Caryophyllene
11	28,028	0.90	Humulene	Humulene
12	29,638	9.78	*Germacrene D*	*Germacrene D*
13	31,099	8.70	Tetradecane	Tetradecane
14	31,535	0.70	.alpha.-Farnesene	α-Farnesene
15	31,657	1.37	Bicyclosesquiphellandrene	Bicyclosesquiphellandrene
16	33,799	0.56	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	Germacrene B
17	35,762	0.62	Alloaromadendrene	Alloaromadendrene
18	37,973	65.84	Apiol	Apiol
19	60,707	0.46	Phytol	Phytol

Figura 5

Cromatografía del extracto de Matico SFE



El perfil cromatográfico del extracto de matico obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos (SFE) reveló la presencia de una diversidad de compuestos volátiles y semivolátiles, entre los que destacó el apiol como componente mayoritario (65,84% del área total). Este compuesto fenólico ha sido reportado con propiedades antimicrobianas y antioxidantes, especialmente frente a bacterias Gram negativas, al alterar la integridad de la membrana bacteriana y provocar la fuga de contenido intracelular (Gomes et al., 2022).

Otros terpenos detectados, como germacrene D (9,78%), tetradecano (8,70%), β-cariofileno (3,28%) y α-humuleno (0,90%), son reconocidos por su acción antimicrobiana y antiinflamatoria (Silva et al., 2021). Germacrene D y β-cariofileno, en particular, han demostrado inhibir el crecimiento de Escherichia coli mediante la disrupción de la membrana citoplasmática y la inhibición de enzimas esenciales para la replicación celular (de Oliveira et al., 2023).

La presencia de monoterpenos como α-pineno, 3-carene y ocimeno, aunque en menores proporciones (<1%), podría contribuir a un efecto sinérgico con los compuestos mayoritarios, potenciando la acción antimicrobiana. Esto concuerda con investigaciones de Rodríguez et al. (2022), quienes reportaron que extractos ricos en apiol y terpenos sesquiterpénicos presentan una fuerte capacidad inhibitoria contra bacterias entéricas, incluyendo cepas resistentes a antibióticos.

- **Cromatografía del extracto de chilca SFE**

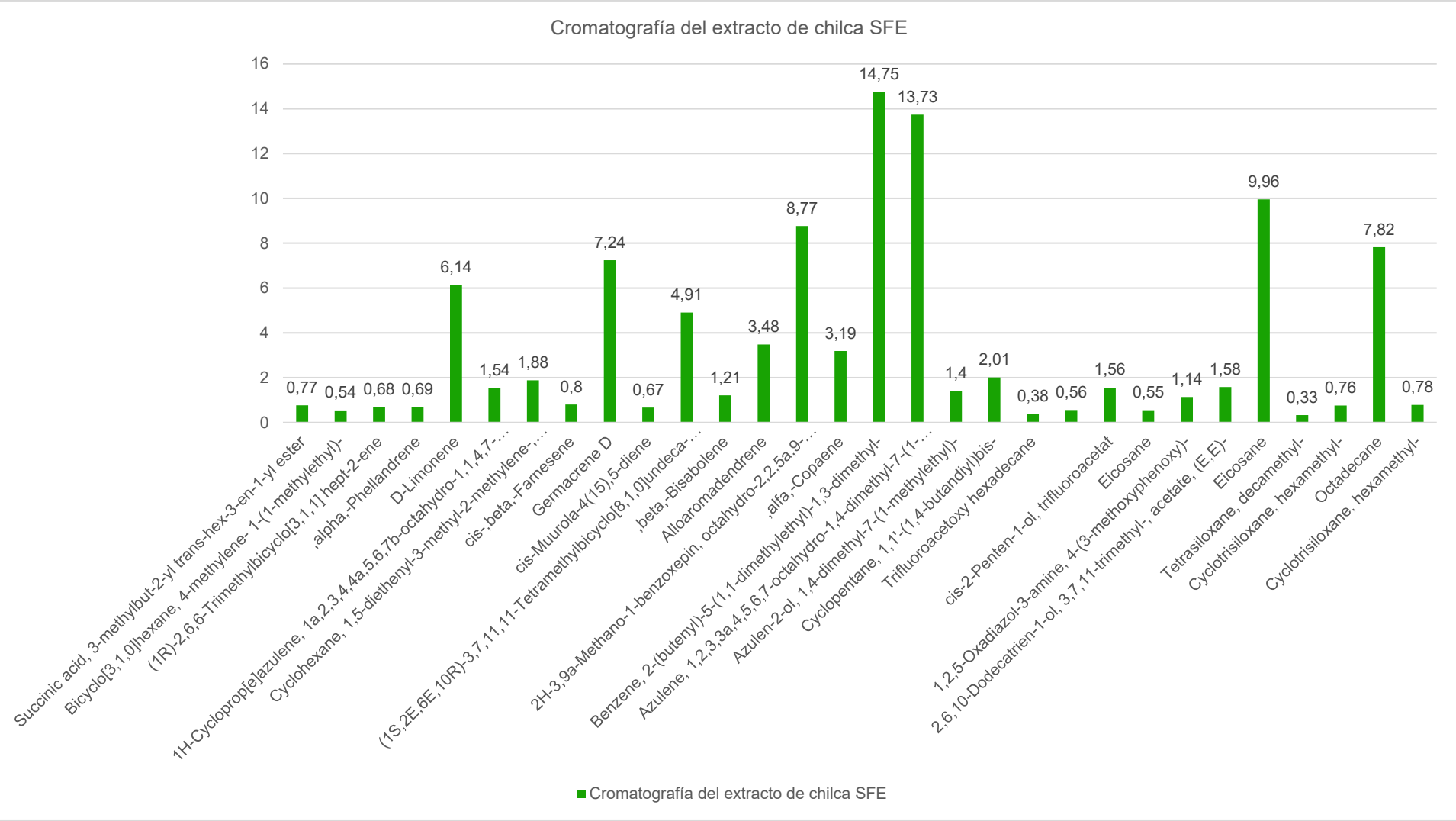
Tabla 12

Cromatografía del extracto de chilca SFE

Pk#	RT	Area %	Compuesto	Sinonimo
1	6,09	0.77	Succinic acid, 3-methylbut-2-yl trans-hex-3-en-1-yl ester	Succinic acid, 3-methylbut-2-yl trans-hex-3-en-1-yl ester
2	6,248	0.54	Bicyclo[3.1.0]hexane, 4-methylene- 1-(1-methylethyl)-	Sabinene
3	6,345	0.68	(1R)-2,6,6-Trimethylbicyclo[3.1.1] hept-2-ene	1R-α-Pinene
4	7,154	0.69	.alpha.-Phellandrene	α-Fellandrene
5	7,941	6.14	D-Limonene	D-Limonene
6	25,59	1.54	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetramethyl-, [1aR-(1a.alpha.,4.alpha.,4a.beta.,7b.alpha.)]-	α-Gurjunene
7	26,11	1.88	Cyclohexane, 1,5-diethenyl-3-methyl-2-methylene-, (1.alpha.,3.alpha.,5.alpha.)	Caryophyllene
8	28,58	0.80	cis-.beta.-Farnesene	cis-.β.-Farnesene
9	29,64	7.24	Germacrene D	Germacrene D
10	30,2	0.67	cis-Muurola-4(15),5-diene	cis-Muurola-4(15),5-diene
11	30,5	4.91	(1S,2E,6E,10R)-3,7,11,11-Tetramethyl-bicyclo[8.1.0]undeca-2,6-diene	Bicyclogermacrene
12	31,42	1.21	.beta.-Bisabolene	.β.-Bisabolene
13	32,2	3.48	Alloaromadendrene	Alloaromadendrene
14	32,34	8.77	2H-3,9a-Methano-1-benzoxepin, octahydro-2,2,5a,9-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,9.alpha.,9a.alpha.)]-	Dihydro-β-agarofuran
15	38,14	3.19	.alfa.-Copaene	.α.-Copaene
16	39,99	14.75	Benzene, 2-(butenyl)-5-(1,1-dimethylethyl)-1,3-dimethyl-	4H-Naphth[1,2-b]oxireno[c]furan, 2,2a,5,5a,6,7,8,9b-octahydro-2a,5a,9-trimethyl-, (2aS,3aR,5aS,9bR)-
17	44,33	13.73	Azulene, 1,2,3,3a,4,5,6,7-octahydro-1,4-dimethyl-7-(1-methylethenyl)-, [1R-(1.alpha.,3a.beta.,4.alpha.,7.beta.)]-	γ-Gurjunene
18	45,28	1.40	Azulen-2-ol, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	Azulen-2-ol, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-
19	49,58	2.01	Cyclopentane, 1,1'-(1,4-butandiyl)bis-	Neophytadiene
20	68,25	0.38	Trifluoroacetoxy hexadecane	Trifluoroacetoxy hexadecane
21	69,59	0.56		farnesol
22	71,45	1.56	cis-2-Penten-1-ol, trifluoroacetat	cis-2-Penten-1-ol, trifluoroacetat
23	71,52	0.55	Eicosane	Eicosane
24	72,04	1.14	1,2,5-Oxadiazol-3-amine, 4-(3-methoxyphenoxy)-	1,2,5-Oxadiazol-3-amine, 4-(3-methoxyphenoxy)-
25	73,4	1.58	2,6,10-Dodecatrien-1-ol, 3,7,11-trimethyl-, acetate, (E,E)-	trans, trans-Farnesyl acetate
26	74,37	9.96	Eicosane	Eicosane
28	75,02	0.33	Tetrasiloxane, decamethyl-	Tetrasiloxane, decamethyl-
29	76,31	0.76	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-
30	77,22	7.82	Octadecane	Octadecane
31	79,9	0.78	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-

Figura 6

Cromatografía del extracto de chilca SFE



El cromatograma del extracto de chilca mostró una composición química más distribuida entre diversos compuestos, destacando la presencia de benzofurano derivado (14,75%), γ-gurjuneno (13,73%) y eicosano (9,96%), seguidos de dihidro-β-agarofurano (8,77%) y octadecano (7,82%). Varios de estos compuestos han sido asociados con propiedades antimicrobianas, principalmente mediante mecanismos de alteración de la permeabilidad de membrana y desnaturalización de proteínas bacterianas (Santos et al., 2022).

El γ-gurjuneno y el α-copaeno, ambos sesquiterpenos presentes en proporciones relevantes, han sido documentados por su capacidad para inhibir la formación de biopelículas bacterianas, lo que podría explicar la actividad observada en los ensayos de inhibición. La detección de D-limoneno (6,14%) añade un componente monoterpénico de amplio espectro, reconocido por su acción antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas, actuando principalmente sobre la membrana citoplasmática (Zhou et al., 2021).

Cabe destacar que, a diferencia del matico, el extracto de chilca presentó un espectro químico más diverso, pero con menores concentraciones de un único compuesto dominante. Esto podría indicar un mecanismo de acción basado en la interacción sinérgica de múltiples metabolitos secundarios, lo que ha sido descrito en otras especies del género Baccharis (Cueva-Castillo et al., 2023).

4.1.4. Análisis estadísticos

- **Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)**

Tabla 13

Resultado Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)

Prueba	*Estadístico*	*Valor-P*
Estadístico W de Shapiro-Wilk	0,7277	0,00105821

El análisis de normalidad realizado mediante la prueba de Shapiro–Wilk arrojó un estadístico **W = 0,7277** con un valor de **p = 0,001058**, lo que indica que existe suficiente evidencia para rechazar la hipótesis nula de normalidad. Esto significa que la distribución de los datos se desvía significativamente de la curva normal

teórica, una situación frecuente en estudios de inhibición microbiana debido a la variabilidad inherente en los halos de inhibición y a la naturaleza biológica de los ensayos (García-Viguera et al., 2022).

Este comportamiento no paramétrico también ha sido documentado por González-Pastor et al. (2023), quienes señalan que la heterogeneidad de las respuestas antimicrobianas frente a extractos vegetales tiende a generar distribuciones asimétricas y con colas pesadas, especialmente cuando existen tratamientos con actividad muy superior o nula.

- **Homogeneidad de varianzas**

Tabla 14

Resultados Prueba de Levene

	Prueba	*Valor-P*
Levene's	13,8639	0,00155513

El test de Levene mostró un valor **F = 13,8639** con un **p = 0,001555**, indicando que las varianzas no son homogéneas entre los tratamientos. La heterocedasticidad observada puede deberse a las diferencias químicas y de concentración de metabolitos activos presentes en cada extracto, que impactan de manera variable en la inhibición bacteriana. Este fenómeno ha sido descrito por Fernández-Marín et al. (2021), quienes señalan que la variabilidad en la eficacia antimicrobiana de extractos vegetales está estrechamente relacionada con la diversidad de compuestos fitoquímicos, sus interacciones y las condiciones de extracción.

4.2. Análisis de varianza (ANOVA)

Tabla 15

ANOVA de los tratamientos en estudio.

Fuente	***Suma de Cuadrados***	***Gl***	***Cuadrado Medio***	***Razón-F***	***Valor-P***
Entre grupos	128,917	3	42,9722	5,61	0,0229
Intra grupos	61,3333	8	7,66667		
Total (Corr.)	190,25	11			

El incumplimiento de los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas sugiere que, aunque se empleó un ANOVA unifactorial dentro del diseño completamente al azar (DCA), los resultados deben interpretarse con cautela. El ANOVA de un factor mostró diferencias estadísticamente significativas en los diámetros de inhibición entre tratamientos (**p < 0,05**), confirmando que al menos uno de ellos presentó un efecto antimicrobiano distinto. La magnitud de la inhibición fue mayor en los tratamientos T1 (Matico) y T2 (Chilca), ambos con halos promedio de 14–15 mm, en comparación con el tratamiento T4 (Testigo: Amoxicilina + Ácido clavulánico), que presentó inhibiciones menores y en algunos casos nulas.

Estos hallazgos son relevantes, ya que sugieren que los extractos vegetales podrían igualar o superar la efectividad de ciertos antibióticos de uso clínico, especialmente en cepas que muestran resistencia. Estudios como el de Aponte-González et al. (2022) y Serrano-García et al. (2023) han reportado resultados similares, donde extractos ricos en flavonoides y terpenoides superaron en actividad a antibióticos comerciales frente a *Escherichia coli* multirresistente.

- **Comparación múltiple de medias (Tukey HSD)**

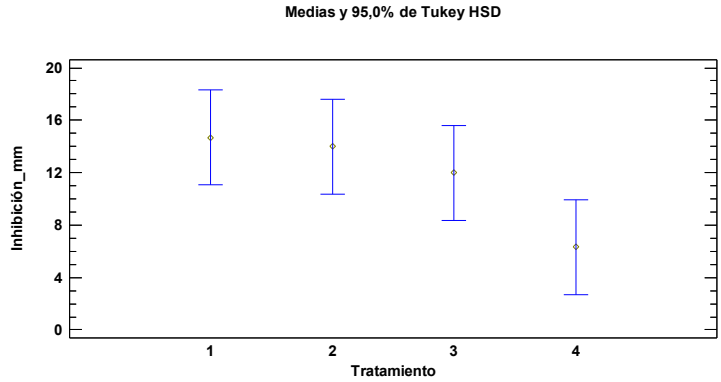
Tabla 16

Resultados Prueba Tukey HSD

Tratamiento	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	3	6,33333	A
3	3	12,0	AB
2	3	14,0	B
1	3	14,6667	B

Figura 7

Resultados Prueba Tukey HSD Medias



La prueba de Tukey HSD permitió identificar de forma precisa cuáles tratamientos presentaron diferencias significativas en su capacidad para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli.* El tratamiento con Amoxicilina + ácido clavulánico (T4), utilizado como referencia, mostró el menor diámetro promedio de halo (**6,33 mm**) evidenciando un efecto antimicrobiano notablemente más bajo que el de los extractos vegetales. Por su parte, los tratamientos con extractos individuales de Matico (*Piper aduncum*) y Chilca (*Baccharis latifolia*) (T1 y T2) alcanzaron diámetros de **14,67 mm** y **14,0 mm** respectivamente confirmando una actividad superior al antibiótico comercial. La combinación de ambos extractos (T3) obtuvo un halo de **12,0 mm**, situándose en un punto intermedio, sin diferencias claras con el testigo ni con los extractos individuales.

Este comportamiento sugiere que, en este caso, los compuestos activos de cada planta actúan de forma más efectiva cuando se emplean por separado, lo que podría explicarse por interacciones fitoquímicas que no generan sinergia positiva e incluso podrían interferir entre sí. Investigaciones recientes respaldan esta observación: López-Hernández et al. (2023) demostraron que el extracto de *Piper aduncum* inhibe de manera significativa a *Escherichia coli* gracias a su alta concentración de aceites esenciales y fenoles, mientras que Cueva-Castillo et al. (2023) atribuyen la acción de *Baccharis latifolia* a sus flavonoides y lactonas sesquiterpénicas. Sin embargo, tal como advierten García-Viguera et al. (2022), la mezcla de metabolitos de distintas especies puede generar interacciones que reduzcan su efectividad, fenómeno que parece haber ocurrido en este estudio.

Estos resultados refuerzan el potencial de los extractos vegetales evaluados como alternativas terapéuticas, especialmente frente a cepas de *E. coli* que muestran resistencia a antimicrobianos convencionales.

4.3. Comprobación de hipótesis

El análisis bromatológico mostró diferencias relevantes en la composición de las plantas evaluadas. El Matico presentó valores más elevados de fibra (23,83%) y cenizas (15,54%) que la Chilca, que alcanzó 17,35% y 8,97% respectivamente. Estas características sugieren una mayor concentración de metabolitos secundarios.

Al evaluar la actividad antimicrobiana mediante halos de inhibición, se evidenció un efecto superior de los extractos en relación con el antibiótico testigo. El Matico registró un promedio de 14,66 mm, la Chilca 14 mm y la combinación de ambos 12 mm, frente a los 6,33 mm obtenidos con el testigo.

Finalmente, el análisis cromatográfico (GC-MS) permitió identificar los compuestos responsables de la actividad antimicrobiana. En el Matico destacó la presencia de apiol (65,84%), mientras que en la Chilca predominaron γ-gurjuneno (13,73%) y derivados oxigenados (14,75%). Estos metabolitos, conocidos por su capacidad de alterar la membrana celular bacteriana y afectar procesos vitales de la célula, explican de manera directa la acción inhibitoria registrada en las pruebas microbiológicas.

El análisis de varianza (ANOVA) bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) evidenció diferencias altamente significativas en el efecto de los tratamientos evaluados (**$p < 0,05$**), los resultados de la prueba de Tukey evidenciaron que los tratamientos con extracto de matico (T1: 14,67 mm) y extracto de chilca (T2: 14,00 mm) conformaron el grupo con mayor potencia inhibitoria, superando significativamente al antibiótico de referencia (T4: 6,33 mm), mientras que la combinación de ambos extractos (T3: 12,00 mm) mostró una eficacia intermedia.

Con los resultados obtenidos permitió rechazar la hipótesis nula (H_0) y aceptar la hipótesis alternativa (H_1): Existe efecto antimicrobiano del extracto de matico

(*Piper adumcum*) y la chilca (*baccharis latifolia*) frente a amoxicilina más acido clavulánico sobre *Escherichia coli.*

Esta comprobación confirma que los metabolitos secundarios presentes en ambas especies no solo confieren propiedades biológicas relevantes, sino que también consolidan su potencial como alternativa natural en el ámbito veterinario y agropecuario sostenible.

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se logró caracterizar de manera integral la composición bromatológica y cromatográfica de los extractos de *Piper aduncum* (matico) y *Baccharis latifolia* (chilca), estableciendo su relación directa con la actividad antimicrobiana frente a *Escherichia coli* ATCC 25922. Se determinó que el matico posee un contenido superior de fibra (23,83%) y cenizas (15,54%) respecto a la chilca (17,35% y 8,97% respectivamente), lo que refleja una mayor concentración mineral y estructural que podría estar asociada a su perfil fitoquímico y eficacia biológica.

Se identificaron compuestos clave mediante cromatografía de gases, destacando en el matico el apiol como principal componente (65,84%), reconocido por su potencial antimicrobiano, y en la chilca la presencia de sesquiterpenos y compuestos aromáticos como el γ-gurjuneno (13,73%) y 4H-Naphth[1,2-b]oxireno[c]furan (14,75%), ambos con respaldo científico por su efectividad frente a bacterias Gram negativas.

Las pruebas de inhibición bacteriana evidenciaron que el matico presentó el halo promedio de inhibición más alto (14,66 mm), seguido por la chilca (14 mm) y la combinación de ambos extractos (12 mm), mientras que el tratamiento testigo con amoxicilina + ácido clavulánico mostró un halo significativamente menor. Este resultado confirma que los extractos vegetales evaluados en esta investigación poseen un potencial antimicrobiano comparable o superior al de un antibiótico comercial bajo las condiciones experimentales establecidas.

El análisis estadístico mediante ANOVA y la prueba de Tukey confirmó que los extractos de matico y chilca presentan una efectividad similar entre sí, pero significativamente mayor al tratamiento testigo. Este hallazgo valida científicamente su posible uso como alternativas naturales para el control bacteriano, aportando evidencia sólida que respalda la integración de fitocompuestos en estrategias de control antimicrobiano en el ámbito veterinario y agropecuario.

5.2. Recomendaciones

- Profundizar en estudios de fraccionamiento y purificación de los compuestos activos presentes en *Piper aduncum* y *Baccharis latifolia* para identificar de manera específica las moléculas responsables de la actividad antimicrobiana.
- Evaluar la eficacia de los extractos frente a diferentes cepas patógenas, incluyendo bacterias Gram positivas y hongos, para ampliar el espectro de aplicación de estos fitocompuestos.
- Desarrollar formulaciones combinadas que integren extractos vegetales con antibióticos de bajo espectro, con el fin de potenciar su efecto y disminuir la presión selectiva que favorece la resistencia bacteriana.
- Se recomienda la inclusión de estas plantas en programas de investigación aplicada y en planes de producción sustentable, aprovechando su disponibilidad local y bajo costo de obtención.
- Se recomienda complementar este estudio con pruebas de concentración mínima inhibitoria (CMI), a fin de cuantificar con mayor precisión la dosis mínima necesaria de los extractos para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli.* Esto permitirá comparar los resultados de forma estandarizada con los antibióticos convencionales y abrir el camino a aplicaciones clínicas y veterinarias

BIBLIOGRAFÍA

Arizmendi, K., Muñoz, C., & Vazquez, M. (2019). *Fluidos supercriticos.* Mexico: Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas. Obtenido de https://es.scribd.com/document/460684492/Fluidos-Supercri-ticos-docx

Barrantes, K., Chacón, L., & Arias, M. (2022). El Impacto de la resistencia a los antibióticos en el desarrollo sostenible. *Población y Salud en Mesoamérica., 19*(2), 1-24. doi:https://doi.org/10.15517/psm.v0i19.47590

Barreto, G. (2021). Manual de laboratorio nutrición y bromatología. *Repositorio Uniatlántico*, 11. Obtenido de https://hdl.handle.net/20.500.12834/866

Bayas, F., Ramón, R., García, M., & Cardenas, G. (2020). Antibacterial and antioxidant effect of natural extracts from Baccharis latifolia (chilca). *Caspian Journal of Environmental Sciences, 18*(3), 487-493. Obtenido de https://cjes.guilan.ac.ir/article_4476_ca32e606f8816acdf6385f1f8496ee30.pdf

Bello, S. (2023). Mecanismos de resistencia a antibióticos en bacterias. Tratamientos alternativos (Trabajo de grado). Universidad de Coruña. Recuperado el 01 de 12 de 2024, de Universidad de Coruña: https://ruc.udc.es/dspace/bitstream/handle/2183/33330/BelloBrandon_Stefan_TFG_2023.pdf?sequence=2

Bluefish Pharmaceuticals AB. (2023). *Ficha Técnica: Amoxicilina/Ácido Clavulanico.* Obtenido de https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/72246/72246_ft.pdf

Botanical Online. (2025). Características del matico (Piper aduncum). Obtenido de Botanical Online: https://www.botanical-online.com/botanica/pimienta-matico-aduncum-caracteristicas

Camacho, L. A. (20 de Febrero de 2023). Resistencia bacteriana,una crisis actual. *Revista Española de Salud Pública, 97*, 1-10. Obtenido de

https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10541255/pdf/1135-5727-resp-97-e202302013.pdf

Casanova, R., & Parrales, K. (2008). *Manual de operaciòn del equipo de extracción supercrítica utilizando dióxido de carbono como solvente.* Caracas, Venezuela: Prof. Alejandra Meza, Prof. Francisco Yánez. Obtenido de http://saber.ucv.ve/bitstream/10872/15253/2/Manual.pdf

Cernado, E., & Saavedra, J. (2019). *El antibiograma. Interpretación del antibiograma: conceptos generales.* Recuperado el 01 de 12 de 2024, de Desde el laboratorio a la clínica: file:///C:/Users/INTEL/Downloads/S1696281809719274.pdf

Cueva Castillo, F., Morales, J., & Benítez, A. (2023). Variabilidad en la inhibición microbiana de extractos vegetales frente a patógenos entéricos. *evista Ecuatoriana de Ciencias Biológicas, 15*(2), 45-57.

Espín, S. M. (04 de Octubre de 2021). *AAislamiento, identificación y caracterización de microorganismos de interés industrial y ambiental para crear un cepario de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas (FICA) de la Universidad Internacional SEK (tesis).* Recuperado el 30 de 11 de 2024, de UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK: https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/4509/1/Espín%20Osorio%20Samia%20Mishell.pdf

Fernández-Marín, R., Torres, A., & Ríos, L. (2021). Heterocedasticidad en bioensayos de extractos naturales: causas y soluciones estadísticas. *Revista Latinoamericana de Bioestadística, 12*(1), 33-48.

Flores, M. (07 de 06 de 2022). *Zonificación de suelos en Antioquia. .* Obtenido de Agronet.: https://www.agronet.gov.co/desarrollo-rural/Documents/CalidadDeVida/ZonificacionSuelosAntioquia.pdf

García Viguera, C., Martínez, C., & Martínez, A. (2022). Diseño y análisis estadístico de ensayos microbiológicos con productos vegetales.

Phytochemistry Reviews, 1025-1042. doi: https://doi.org/10.1007/s11101-022-09826-4

García, H. O. (2024). *Evaluación de la localización de los filamentos MreB y estructura de los flagelos en Escherichia coli, en presencia de carvacrol (tesis). Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Ciencias Biológicas.* Recuperado el 30 de 11 de 2024, de http://eprints.uanl.mx/26495/1/1080312754.pdf

Gönül, S. (2023). Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles were Obtained from the Extract of Pomegranate (Punica granatum L.) Leaves by Supercritical Extraction Using Microwave Method. *Celal Bayar University Journal of Science*, 353. Obtenido de Celal Bayar University Journal of Science

Gonzales, J., Maguaña, C., & Gonzales, F. (08 de Mayo de 2019). La resistencia a los antibioticos: un problema muy serio. (C. M. Vargas, Ed.) *Acta Med, 36*(2), 145-51. Recuperado el 15 de Noviembre de 2024, de Acta Med: http://www.scielo.org.pe/pdf/amp/v36n2/a11v36n2

González Pastor, J., Herrera, R., & Díaz, C. (2023). Análisis no paramétrico de la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *Journal of Ethnopharmacology*, 306. doi:https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116172

Google maps. (2024). *Google maps*. Obtenido de Google maps.

Herrera, J. L. (2023). APLICACIÓN DE LA FITOTERAPIA EN EL TRATAMIENTO DE COVID-19. *Enfermería Investiga*, 27. Obtenido de https://revistas.uta.edu.ec/erevista/index.php/enfi/article/view/2001/2380

IDEXX Laboratories, Inc. (2023). *Guía microbiológica para interpretar la concentración mínima inhibitoria (CMI).* Recuperado el 30 de 11 de 2024, de Actualización en Diagnóstico: https://www.idexx.es/files/mic-guía-microbiológica-es.pdf

Ingaroca, S., Castro , A., & Ramos, N. (2019). Composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre Candida albicans del

aceite esencial de Piper aduncum L. “Matico”. *Revista de la Sociedad Química del Perú, 85*(2). Obtenido de http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v85n2/a13v85n2.pdf

Kuzhuppillymyal, L., Martínez, A., & Cruz, F. (2023). Los metabolitos secundarios agentes antimicrobianos. *Biologia y Sociedad*, 33-35.

Martínez López, P., Vega, S., & Ramos, D. (2022). Validación estadística de ensayos de inhibición microbiana: de ANOVA a Kruskal–Wallis. *Applied Microbiology International, 4*(1), 59-74.

Martínez, L., & Porras, A. (14 de 12 de 2021). *Lectura interpretada del antibiograma.* Obtenido de Guía-ABE. Infecciones en Pediatría.: https://www.guia-abe.es/files/pdf/Antibiograma.pdf

METEORED. (2024). *METEORED*. Obtenido de METEORED: https://www.meteored.com.ec/tiempo-en_Guaranda-America+Sur-Ecuador-Bolivar--1-20143.html

Mexico, La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. (2022). Manuales practicos para la elaboracion de bioinsumos. *La Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural Mexico*, 8.

Ore, F., Ruiz, A., Ticsihua, J., & Corilla, D. (2021). Piper aduncum L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. *VIVE*, 537-543. Obtenido de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2664-32432021000300100

Ore, F., Ticsihua, J., Ruiz, A., & Corilla, D. (Septiembre-Diciembre de 2021). Piper aduncum L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. *VIVE. Revista de Investigación en Salud, 4*(12), 534-549. doi:https://doi.org/10.33996/revistavive.v4i12.111

Ortiz, E., Ordinola, A., & Ali, B. L. (Mayo-Junio de 2023). ¿Un mundo sin antibióticos? Conoce la resistencia antimicrobiana. *Revista Digital*

Universitaria (RDU), 24(3), 1-8. doi: http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2023.24.3.9

Palomino, M., Benavides, J., Osorio, L., Olivera, M., Maradey, J., Manosalva, A. C., . . . Del Valle, E. (Noviembre-Diciembre de 2023). Impacto De La Resistencia A Los Antibióticos En Latinoamérica En La Ultima Decada. *Ciencia Latina Internacional, 7*(6), 4890-4901. doi:https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i6.9045

Pautrat, L., Sombrero , M., & Sánchez, P. (2021). El comando matico. *Kené*, 47. Obtenido de https://keneamazon.net/Documents/Kene/El-Comando-Matico.pdf

Pérez, L., Suárez, Y., Ortega, A., & Travieso, M. d. (2021). Actualidad y perspectiva de los antimicrobianos naturales. *Revista Cubana de Farmacia, 54*(3), 1-22. doi:https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Reyes, J. (12 de 2018). *idus.us.es.* Obtenido de idus.us.es: https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/82249/JOS%C3%89%20REYES%20VARGAS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Rodríguez, L. (2021). *PRÁCTICA 6.- EXTRACCIÓN SÓLIDO - LÍQUIDO.* Tuxtla Gutiérrez: Tecnológico Nacional de México. Obtenido de https://es.scribd.com/document/509925269/Practica-6-Extraccion-Soxhlet

Román, M. A., Cardona, L. M., Rivera, M. C., Muñoz, L. M., Goméz, D. D., Carvalho, C. P., & Quicemp, J. M. (2016). *www.studocu.com.* Obtenido de www.studocu.com: https://www.studocu.com/pe/document/universidad-nacional-pedro-ruiz-gallo/tecnologia-de-los-alimentos/guia-extraccion-fluidos-supercriticos/37886599

Sandoval, M. (09 de 2021). Análisis de las características fitoquímicas, propiedades farmacológicas, usos y aplicaciones más comunes de la Chilca (Baccharis latifolia) en el Ecuador. Obtenido de repositorio.uta.edu.ec:

https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/33670/1/BQ%20290.pdf

Sanz, L. (24 de Junio de 2021). *Estudio de factores de virulencia en Escherichia coli.* Recuperado el 30 de 11 de 2024, de Facultad de Medicina Universidad de Valladolid: https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/48444/TFG-M-N2387.pdf?sequence=1

Silva, J., Castro, R., & Oliveira, M. (2022). Phytochemical profile and antibacterial potential of Piper aduncum extracts. *Industrial Crops and Products*, 189. doi:https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115810

Treviño, & Molina, N. (2022). Antibióticos: mecanismos de acción y resistencia bacteriana. Obtenido de https://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/136280/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Tubon, I., Medina, G., Mena, P., & Vaca, G. (2024). La resistencia bacteriana en el Ecuador. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 43*, 1-22. doi:https://creativecomons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Valdés, R. (04 de Noviembre de 2019). *Medio-LIA-Valtek-Versión-3.pdf.* Recuperado el 30 de 11 de 2024, de VALTEK S.A: https://www.valtek.cl/wp-content/uploads/2020/02/Medio-LIA-Valtek-Versión-3.pdf

Valenzuela, E. (2023). La chilka en el valle de La Paz. *Ciencia y Cultura*, 68-70.

ANEXOS

Anexo 1 *Mapa de la ubicación de la investigación.*



Universidad Estatal de Bolívar, Facultad de ciencias agropecuarias recursos naturales y del medio ambiente, Laguacoto II, (Guaranda Km 1 ½ Vía san Simón), Guaranda- Ecuador

Anexo 2 *Base de datos.*

Fecha	**Código De Muestra**	**Repetición**	**Bacteria**	**Sensibilidad**
17-jul-25	A1 B1	R1	*E coli* ATCC 25922	14mm
17-jul-25	A1 B1	R2	*E coli* ATCC 25922	15mm
17-jul-25	A1 B1	R3	*E coli* ATCC 25922	15mm
18-jul-25	A1 B2	R1	*E coli* ATCC 25922	14 mm
18-jul-25	A1 B2	R2	*E coli* ATCC 25922	14 mm
18-jul-25	A1 B2	R3	*E coli* ATCC 25922	14 mm
18-jul-25	A1 B3	R1	*E coli* ATCC 25922	12 mm
18-jul-25	A1 B3	R2	*E coli* ATCC 25922	12 mm
18-jul-25	A1 B3	R3	*E coli* ATCC 25922	12 mm
17-jul-25	A1 B4	R1	*E coli* ATCC 25922	10mm
17-jul-25	A1 B4	R2	*E coli* ATCC 25922	9mm
17-jul-25	A1 B4	R3	*E coli* ATCC 25922	0mm

NOTA: A1 *E coli* ATCC 25922, B1 Matico, B2 Chilca, B3 Chilca + Matico y B4 Amoxicilina (20 ug)+ Acido Clavulánico (10ug) .

Anexo 3 *Resultado Análisis bromatológico Matico y Chilca*

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Y FITOQUÍMICA Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYOS Nº160

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Solicitante	Anderson Tipán – Evelin Burbano
Muestra	Hojas de matico – Hojas de chilca
Código asignado UEB	INV308 – INV309
Estado de la muestras	Pulverizadas
Envase de recepción	Bolsas de plástico
Análisis requerido(s)	Fibra, humedad, ceniza
Fecha de recepción	9 de Abril del 2025
Fecha de análisis	9 de Abril – 07 de Mayo 2025
Fecha de informe	20 de Mayo del 2025
Técnico (s) asignado	MPWF

RESULTADOS OBTENIDOS

Código laboratorio	Muestra	Parámetro	Unidad	Método	Resultado
INV308	Hojas de matico	Fibra	%	WEENDE	13,53
		Humedad		AOAC 925.10	7,66
		Ceniza		AOAC 923.03	11,46
INV309	Hojas de chilca	Fibra	%	WEENDE	17,35
		Humedad		AOAC 925.10	9,11
		Ceniza		AOAC 923.03	8,97

Los análisis realizados fueron con tres réplicas



Ing. Favián Bayas, PhD.
Director DIVIUEB

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIO DE ANÁLISIS DE ALIMENTOS Y FITOQUÍMICA Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 1

INFORME DE ENSAYOS N°215

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Solicitante	Anderson Tipan- Evelin Burbano
Muestra	Hojas de matico
Código asignado UEB	INV707
Estado de la muestras	Pulverizadas
Envase de recepción	Bolsas metalizadas
Análisis requerido(s)	Fibra, humedad, ceniza
Fecha de recepción	17 de junio del 2025
Fecha de análisis	17- 19 de junio del 2025
Fecha de informe	17 de julio del 2025
Técnico (s) asignado	MPWF

RESULTADOS OBTENIDOS

Código laboratorio	Muestra	Parámetro	Unidad	Método	Resultado
INV707	Hojas de matico	Fibra	%	WEENDE	23,83
		Humedad		AOAC 925.10	9,21
		Ceniza		AOAC 923.03	15,54

Los análisis realizados fueron con tres réplicas

Ing. Favián Bayas, PhD.
Director DIVIUEB

Anexo 4 *Resultados sensibilidad antimicrobiana para los tratamientos en estudio*

UEB VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	Código	BBM20250
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS DE TESIS	Año	2025
		Pagina	1 de 2

Guaranda, 18 de julio del 2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Evelin Burbano - Anderson Tipan
Muestras	Hojas de Matico y Chilca
Código asignado UEB	INV-708
Estado de la muestra	Liquido ceroso
Envase de recepción	Tubos Eppendorf
Análisis requerido(s)	Sensibilidad antimicrobiana
Fecha de recepción	14 de julio del 2025
Fecha de análisis	14 – 18 de julio del 2025
Fecha de informe	18 de julio del 2025
Técnico asignado	SXSJ

FECHA	CODIGO DE MUESTRA	REPETICIÓN	BACTERIA	SENSIBILIDAD
17-jul-25	A1 B1	R1	E coli ATCC 25922	14mm
17-jul-25	A1 B1	R2	E coli ATCC 25922	15mm
17-jul-25	A1 B1	R3	E coli ATCC 25922	15mm
18-jul-25	A1 B2	R1	E coli ATCC 25922	14 mm
18-jul-25	A1 B2	R2	E coli ATCC 25922	14 mm
18-jul-25	A1 B2	R3	E coli ATCC 25922	14 mm
18-jul-25	A1 B3	R1	E coli ATCC 25922	12 mm
18-jul-25	A1 B3	R2	E coli ATCC 25922	12 mm
18-jul-25	A1 B3	R3	E coli ATCC 25922	12 mm
17-jul-25	A1 B4	R1	E coli ATCC 25922	10mm
17-jul-25	A1 B4	R2	E coli ATCC 25922	9mm
17-jul-25	A1 B4	R3	E coli ATCC 25922	0mm

NOTA: A1 E coli ATCC 25922, B1 Matico, B2 Chilca, B3 Chilca + Matico y B4 Amoxicilina (20 ug)+ Acido Clavulánico (10ug) .

Elaborado

Ing. Santiago Santos Jara, MSc.

Revisado

Ing. Favian Bayas Morejón, Ph.D.

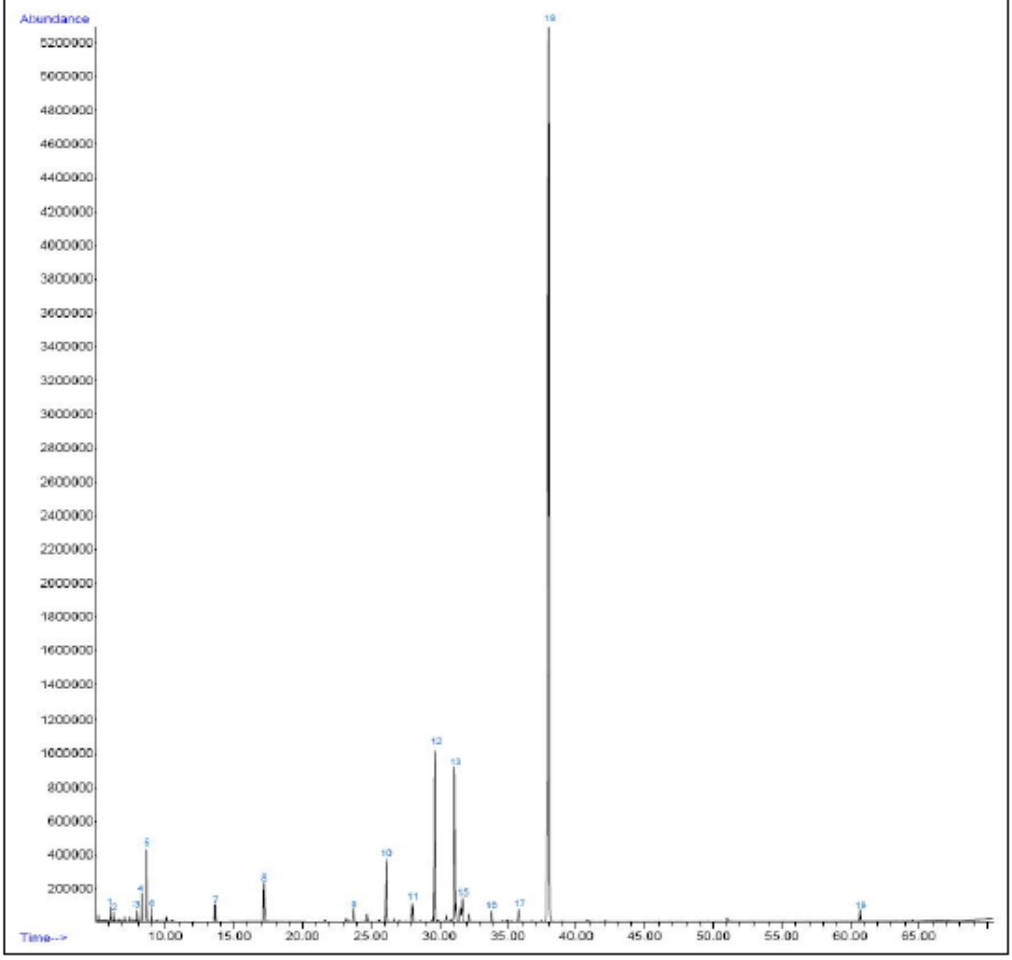
Anexo 5 *Resultado Cromatografía del extracto de Matico SFE*

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR — DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	FPG12-01
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS N°227-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Evelin Cristina Burbano Valverde – Anderson Valentin Tipán Cruz
Muestra	Extracto SFE Matico *(Piper Aduncum)*
Código asignado UEB	INV 763
Estado de la muestra	Liquido Ceroso
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 5 gr aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	21 de julio de 2025
Fecha de análisis	22 de julio al 31 de julio de 2025
Fecha de informe	31 de julio de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Split 40:1. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C durante 1 minuto, se incrementó de 60°C a 100°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 2 min; posteriormente se incrementó de 100°C a 160°C a razón de 2°C /min durante 5 min; finalmente la temperatura se elevó de 160°C a 280°C a razón de 5°C/min durante 15 min. **Tiempo total de corrida**: 90.333 minutos; **Temperatura del detector:** 280°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Oxalic acid, cyclohexyl hexyl ester	6,094	0,45
2	1R-α-Pinene	6,342	0,26
3	(+)-3-Carene	7,945	0,37
4	trans-β-Ocimene	8,257	0,86
5	cis-β-Ocimene	8,615	2,22
6	γ-Terpinene	8,983	0,45
7	*Terpinen-4-ol*	13,607	0,65
8	3-Carvomenthenone	17,167	1,90
9	*Copaene*	23,719	0,63
10	Caryophyllene	26,110	3,28
11	Humulene	28,028	0,90
12	*Germacrene D*	29,638	9,78
13	Tetradecane	31,099	8,70
14	α-Farnesene	31,535	0,70
15	Bicyclosesquiphellandrene	31,657	1,37
16	Germacrene B	33,799	0,56

17	Alloaromadendrene	35,762	0,62
18	Apiol	37,973	65,84
19	Phytol	60,707	0,46

Los compuestos fueron identificados con la Librería NIST14.L.

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

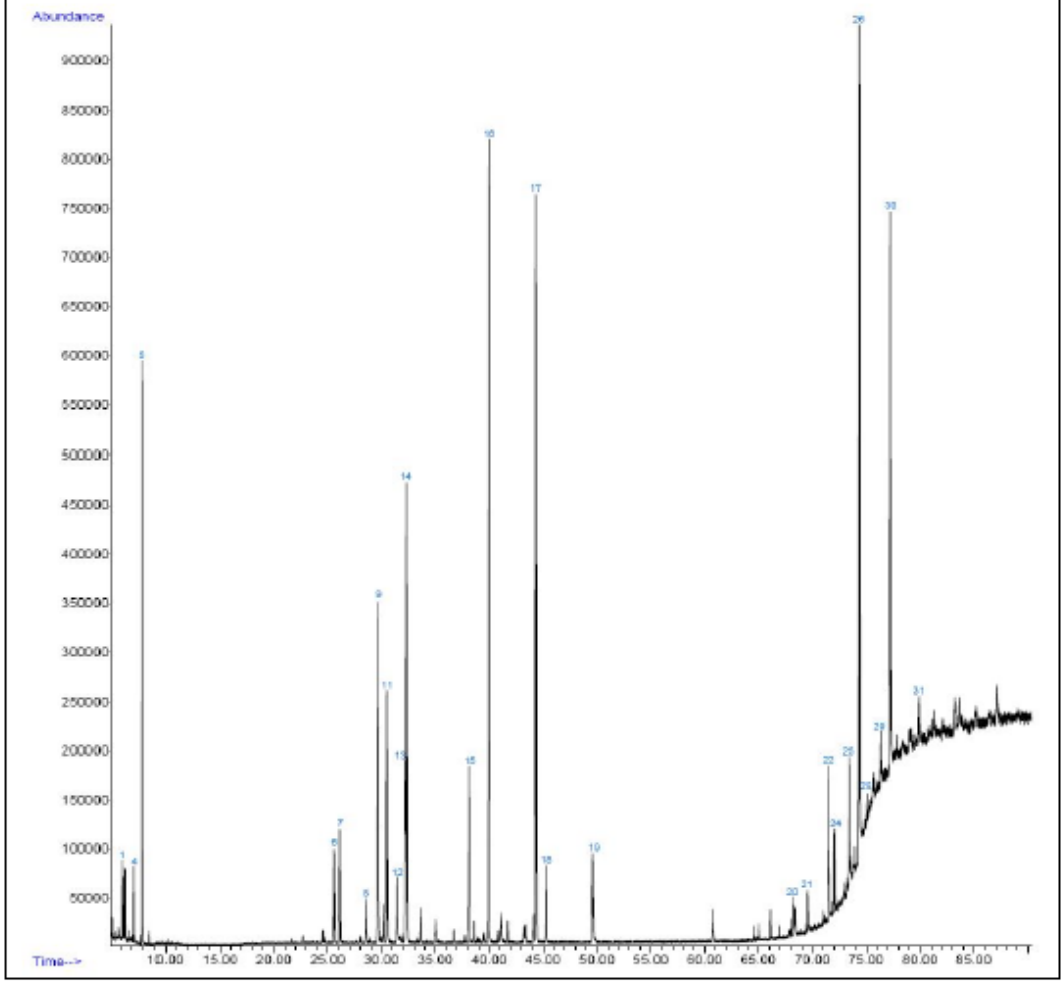
Anexo 6 *Resultado Cromatografía del extracto de chilca SFE*

UEB UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR — DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN	LABORATORIOS DE INVESTIGACIÓN Y VINCULACIÓN Laguacoto II, Km 1 1/2, vía a San Simón, Cantón Guaranda, Provincia Bolívar, Ecuador.	Código	FPG12-01
		Versión	1
	INFORME DE RESULTADOS	Año	2025
		Pagina	Página 1 de 3

INFORME DE ENSAYOS N°228-2025

Descripción de la muestra	
Solicitantes	Evelin Cristina Burbano Valverde – Anderson Valentin Tipán Cruz
Muestra	Extracto SFE Chilca *(Baccharis Latifolia)*
Código asignado UEB	INV 764
Estado de la muestra	Ceroso
Envase de recepción	Frasco de vidrio color ámbar con 7 gr aprox de muestra
Análisis requerido(s)	Identificación de compuestos volátiles por GC-MS
Fecha de recepción	21 de julio de 2025
Fecha de análisis	22 de julio al 31 de julio de 2025
Fecha de informe	31 de julio de 2025
Técnico asignado	ECCR

RESULTADOS OBTENIDOS



EQUIPO	GC AGILENT TECHNOLOGIES 7890 B
DETECTOR	AGILENT TECHNOLOGIES 5977A MSD
COLUMNA	Columna HP-5MS (30m x 0.250mm x 0.25µm)
MÉTODO CROMATOGRÁFICO	**Temperatura del inyector:** 250°C; **Modo de inyección:** Split 40:1. **Programa térmico:** Temperatura del horno 60°C durante 1 minuto, se incrementó de 60°C a 100°C con una rampa de temperatura de 3°C/min durante 2 min; posteriormente se incrementó de 100°C a 160°C a razón de 2°C /min durante 5 min; finalmente la temperatura se elevó de 160°C a 280°C a razón de 5°C/min durante 15 min. **Tiempo total de corrida**: 90.333 minutos; **Temperatura del detector:** 280°C

Nº	Compuesto	Tiempo de retención (min)	Área (%)
1	Succinic acid, 3-methylbut-2-yl trans-hex-3-en-1-yl ester	6,090	0,77
2	Sabinene	6,248	0,54
3	1R-α-Pinene	6,345	0,68
4	α-Fellandrene	7,154	0,69
5	D-Limonene	7,941	6,14
6	α-Gurjunene	25,593	1,54
7	Caryophyllene	26,111	1,88
8	cis-.β.-Farnesene	28,582	0,8
9	Germacrene D	29,635	7,24
10	cis-Muurola-4(15),5-diene	30,197	0,67
11	Bicyclogermacrene	30,503	4,91
12	.β.-Bisabolene	31,422	1,21
13	Alloaromadendrene	32,204	3,48
14	Dihydro-β-agarofuran	32,335	8,77
15	.α.-Copaene	38,137	3,19

16	4H-Naphth[1,2-b]oxireno[c]furan, 2,2a,5,5a,6,7,8,9b-octahydro-2a,5a,9-trimethyl-, (2aS,3aR,5aS,9bR)-	39,990	14,75
17	γ-Gurjunene	44,329	13,73
18	Azulen-2-ol, 1,4-dimethyl-7-(1-methylethyl)-	45,279	1,4
19	Neophytadiene	49,576	2,01
20	Trifluoroacetoxy hexadecane	68,245	0,38
21	farnesol	69,592	0,56
22	cis-2-Penten-1-ol, trifluoroacetat	71,451	1,56
23	Eicosane	71,520	0,55
24	1,2,5-Oxadiazol-3-amine, 4-(3-methoxyphenoxy)-	72,041	1,14
25	trans, trans-Farnesyl acetate	73,400	1,58
26	Eicosane	74,367	9,96
28	Tetrasiloxane, decamethyl-	75,021	0,33
29	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	76,309	0,76
30	Octadecane	77,215	7,82
31	Cyclotrisiloxane, hexamethyl-	79,903	0,78

Los compuestos fueron identificados con la Libreria NIST14.L.

Ing. Erika Cortés Rojas MSc.
Técnica de Laboratorio DIVIUEB
ELABORADO

Ing. Favian Bayas Morejón PhD.
Director DIVIUEB
REVISADO

Anexo 7 *Fotografías*



Fotografía 1 Recolección y clasificación de hojas de Matico



Fotografía 2 Recolección y clasificación de hojas de Chilca



Fotografía 3 Selección de hojas



Fotografía 4 Secado hojas de Matico y Chilca



Fotografía 5 Trituración de hojas para análisis bromatológico



Fotografía 6 Preparación de los materiales de laboratorio para los análisis bromatológicos



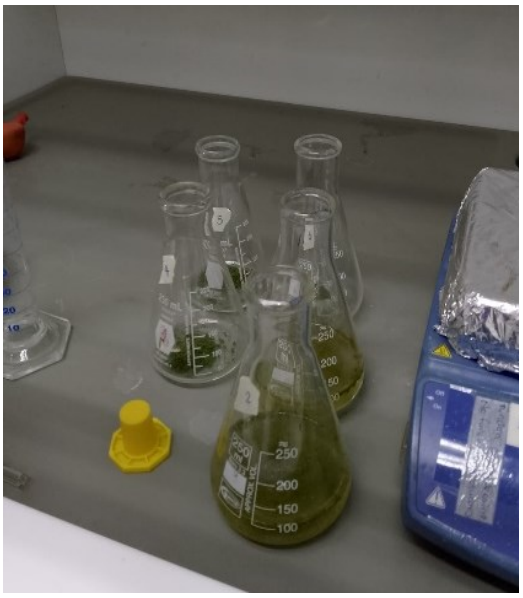
Fotografía 7 Material listo para análisis de humedad



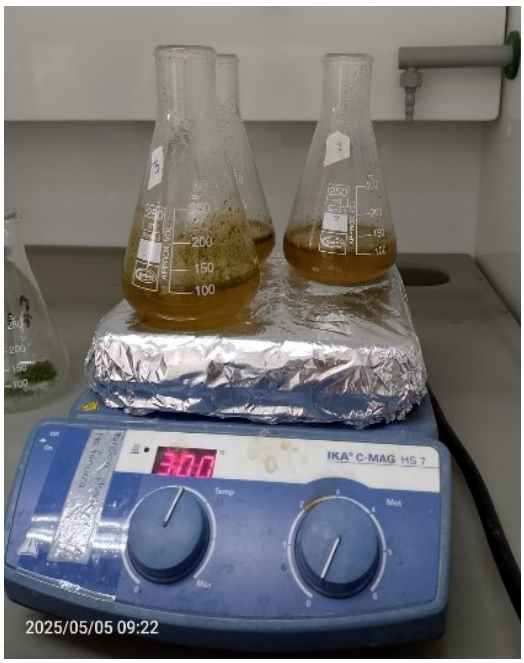
Fotografía 8 Preparación de crisoles para el análisis de ceniza



Fotografía 9 Equipo empleado para la incineración de las muestras



Fotografía 10 Preparación de muestras para análisis de fibra con reactivos ácidos y bases.



Fotografía 11 Ebullición de la materia vegetal con los reactivos.



Fotografía 12 Filtración de fibra primera digestión



Fotografía 13 Filtración de fibra segundas digestión



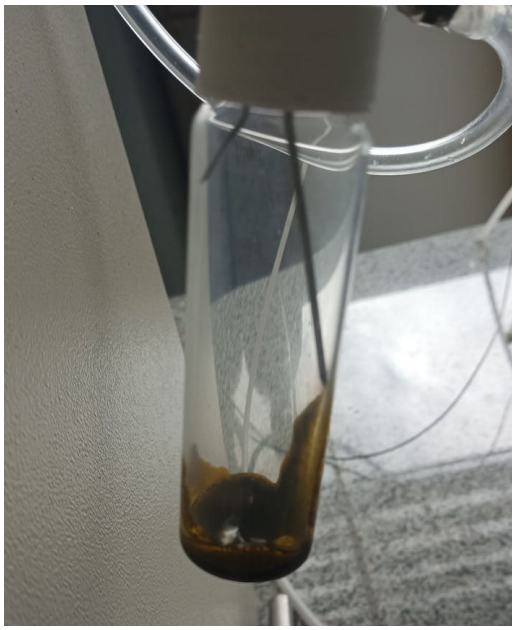
Fotografía 14 Pulverización de hojas en molino eléctrico.



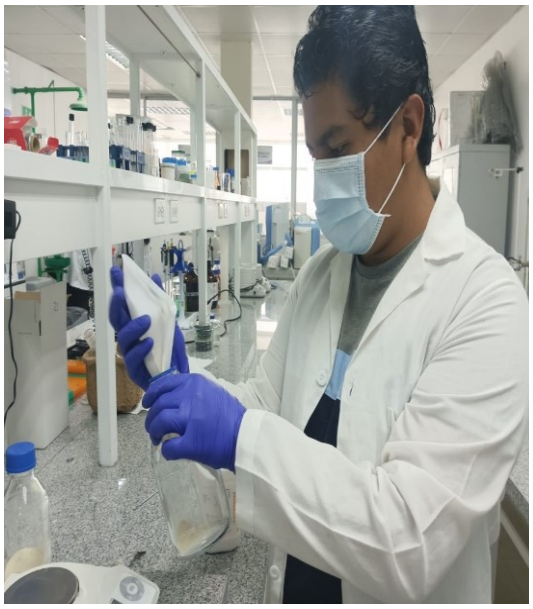
Fotografía 15 Preparación de muestras para máquina de fluidos super críticos.



Fotografía 16 Extracto de chilca mediante fluidos supercríticos SFE



Fotografía 17 Extracto de matico mediante fluidos supercríticos SFE



Fotografía 18 Pesaje de agar muller para análisis de sensibilidad antimicrobiana



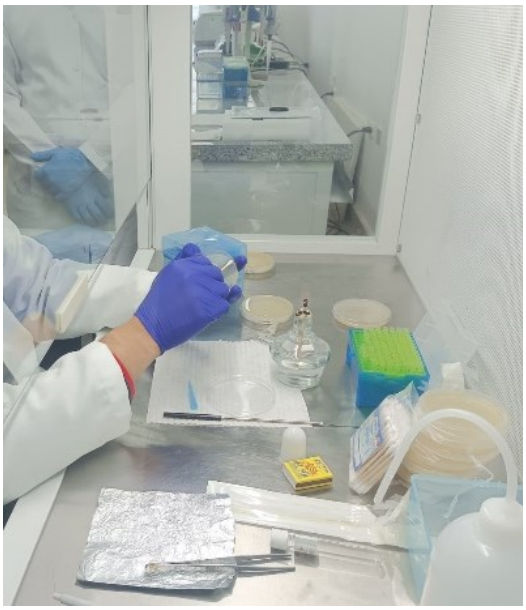
Fotografía 19 Preparación de medios de cultivo



Fotografía 20 Siembra de *E coli* ATCC



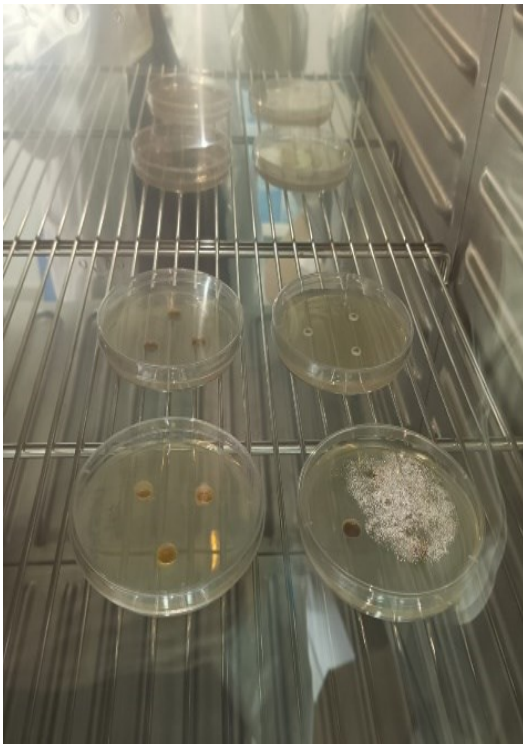
Fotografía 21 Aplicación de prueba de turbidez de Mc Farland



Fotografía 22 Estandarización del método de difusión.



Fotografía 23 Siembra de bacterias para análisis de sensibilidad estandarizado en difusión por pocillos.



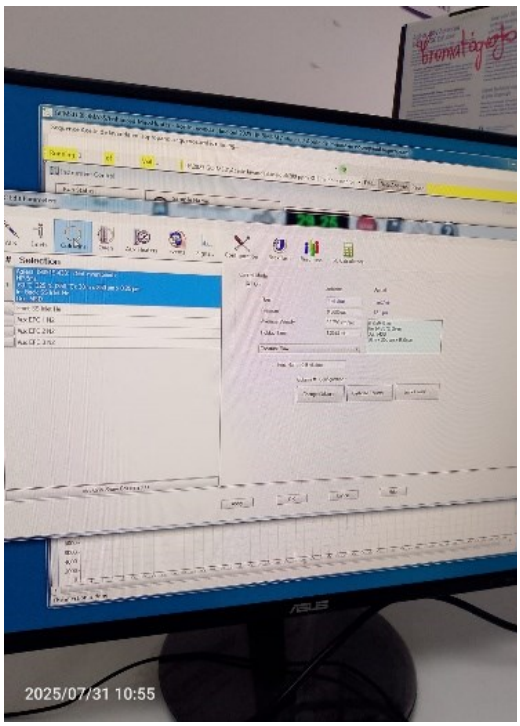
Fotografía 24 Incubación de bacterias para análisis de sensibilidad



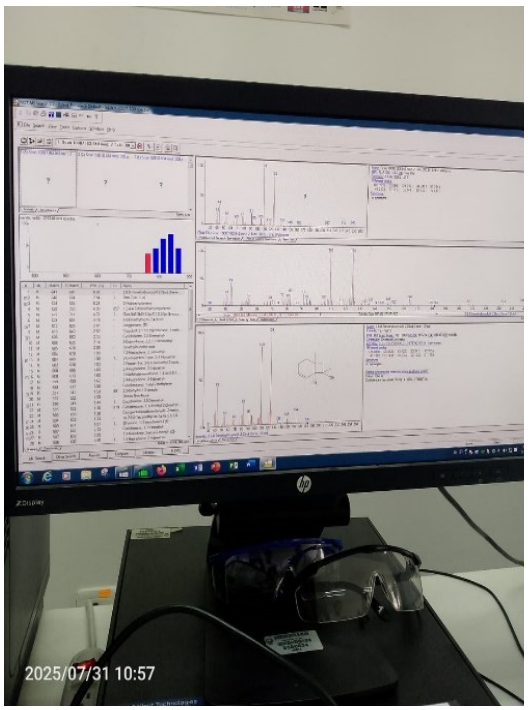
Fotografía 25 Medición de halos de inhibición



Fotografía 26 Análisis cromatográfico- Preparación de muestra



Fotografía 27 Establecimiento de parámetros de análisis



Fotografía 28 Análisis de resultados de la cromatografía

Anexo 8 *Glosario de términos*

Antibacteriano: Sustancia capaz de inhibir o eliminar el crecimiento de bacterias patógenas sin afectar significativamente a las células del hospedador, utilizada tanto en medicina humana como veterinaria.

Antibiótico: Compuesto natural o sintético que actúa contra microorganismos, interfiriendo en funciones vitales como la síntesis de proteínas o de la pared celular bacteriana.

Amoxicilina: Antibiótico betalactámico semisintético de amplio espectro, eficaz frente a bacterias Gram positivas y negativas; su acción se potencia al combinarse con ácido clavulánico.

Ácido clavulánico: Sustancia betalactámica que inhibe enzimas bacterianas llamadas betalactamasas, impidiendo que estas destruyan los antibióticos del grupo de las penicilinas.

Actividad antimicrobiana: Capacidad de un agente químico o biológico para detener el crecimiento o eliminar microorganismos patógenos como bacterias, hongos o virus.

Betalactamasas: Enzimas producidas por bacterias resistentes que degradan antibióticos betalactámicos, anulando su efecto terapéutico.

Cenizas: Residuos minerales que permanecen tras la incineración de una muestra orgánica; su análisis permite conocer la cantidad de minerales presentes en una planta o alimento.

Compuestos bioactivos: Sustancias químicas presentes en organismos vegetales o animales que ejercen efectos biológicos positivos, como antioxidantes, antimicrobianos o antiinflamatorios.

Difusión en agar: Método microbiológico usado para evaluar la sensibilidad de una bacteria frente a un antimicrobiano, midiendo el diámetro del halo de inhibición alrededor del disco tratado.

Extracto vegetal: Sustancia líquida concentrada obtenida de partes de plantas mediante solventes; contiene principios activos responsables de sus propiedades farmacológicas.

Fitoterapia: Ciencia que estudia el uso medicinal de plantas y sus extractos naturales para prevenir, aliviar o curar enfermedades en humanos y animales.

Flavonoides: Grupo de metabolitos secundarios de origen vegetal con actividad antioxidante y antimicrobiana, presentes en hojas, flores y raíces.

Humedad: Cantidad de agua contenida en un material; en productos vegetales se relaciona directamente con su estabilidad, conservación y calidad.

Metabolitos secundarios: Compuestos orgánicos producidos por las plantas no esenciales para su crecimiento, pero con funciones defensivas y farmacológicas, como alcaloides, terpenos y taninos.

Microorganismo: Ser vivo microscópico, como bacterias, hongos o virus, capaz de causar infecciones o participar en procesos biotecnológicos beneficiosos.

Peptidoglucano: Componente estructural de la pared bacteriana que proporciona rigidez y forma a la célula; es el principal blanco de los antibióticos betalactámicos.

Resistencia antimicrobiana: Capacidad adquirida por los microorganismos para sobrevivir o multiplicarse pese a la exposición a agentes antimicrobianos, generando fallos terapéuticos.

Soxhlet: Técnica de laboratorio empleada para extraer compuestos de una muestra sólida mediante solventes calientes, usada comúnmente en estudios bromatológicos y fitoquímicos.

Tinción de Gram: Método de coloración diferencial utilizado para clasificar bacterias según su estructura celular, diferenciándolas en Gram positivas y Gram negativas.

Zona de inhibición: Área circular sin crecimiento bacteriano alrededor de un agente antimicrobiano en una placa de cultivo; su tamaño refleja la efectividad del tratamiento aplicado.