

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y
BIOQUIMICA



EFECTO ANTIBACTERIANO DEL EXTRACTO ETANÓLICO
DE LOS BULBOS DE *ALLIUM SATIVUM* (AJO) SOBRE EL
DESARROLLO DE *STHAPHYLOCOCCUS AUREUS*.

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Autor (es)

Calderón Villarreal Marlene
Rodríguez Sáenz Thalía Emilyn

Asesor

Torres Solano Carol Giovanna
Código ORCID: 0000-0002-2313-3039

Nuevo Chimbote – Perú

2024

INDICE DE CONTENIDOS

| | |
|--|-----|
| INDICE DE TABLAS | II |
| PALABRA CLAVE | III |
| RESUMEN | IV |
| ABSTRACT | V |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| METODOLOGÍA | 18 |
| TIPO Y DISEÑO DE INVESTIGACIÓN | 18 |
| POBLACIÓN - MUESTRA Y MUESTREO | 18 |
| TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN | 19 |
| PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN | 20 |
| RESULTADOS | 21 |
| ANÁLISIS Y DISCUSIÓN | 27 |
| CONCLUSIONES | 30 |
| RECOMENDACIONES | 31 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 32 |
| ANEXOS | 34 |

INDICE DE TABLAS

| | | |
|-----------------|---|----|
| Tabla 1 | Porcentaje de rendimiento al obtener el extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo). | 21 |
| Tabla 2 | Estudio fisicoquímico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo). | 22 |
| Figura 1 | Promedio del diámetro de los halos de inhibición al evaluar el efecto antibacteriano de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> . | 23 |
| Figura 2 | Porcentaje de inhibición antibacteriana de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> . | 24 |

1 Palabra clave

| | |
|---------------------|---|
| Tema | Efecto antibacteriano de los bulbos de ajo. |
| Especialidad | Farmacoterapia |

Keywords

| | |
|-------------------|---------------------------------------|
| Subject | Antibacterial effect of garlic bulbs. |
| Speciality | phytotherapy |

Línea de investigación

| | |
|-------------------------------|-----------------------------------|
| Línea de investigación | Recursos naturales y terapéuticos |
| Área | Ciencias médicas y de la salud |
| Subarea | Medicina basica |
| Disciplina | Farmacología y farmacia |



CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD

El que suscribe, Vicerrector de Investigación de la Universidad San Pedro:

HACE CONSTAR

Que, de la revisión del trabajo titulado "Efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*." del (a) estudiante: **RODRIGUEZ SAENZ THALIA EMILYN**, identificado(a) con Código N° **1415200072**, se ha verificado un porcentaje de similitud del **27%**, el cual se encuentra dentro del parámetro establecido por la Universidad San Pedro mediante resolución de Consejo Universitario N° 5037-2019-USP/CU para la obtención de grados y títulos académicos de pre y posgrado, así como proyectos de investigación anual Docente.

Se expide la presente constancia para los fines pertinentes.

Chimbote, 29 de abril de 2024

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Dr. JAVIER MARTÍNEZ CARRIÓN
VICERRECTOR



NOTA: Este documento carece de valor si no tiene adjunta el reporte del Software TURNITIN.

Título

Efecto antibacteriano del extracto etanólico los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

2 Resumen

La presente investigación buscó evaluar la actividad antibacteriana del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*. Donde se empleó el extracto de los bulbos de ajo y cepas de *Staphylococcus aureus*, se emplearon cinco placas petrí conteniendo el cultivo bacteriano, luego se embebieron tres discos de papel filtro con los tratamientos y se colocaron sobre la placa Petri de manera equidistante: El estándar farmacológico con el que se compara la acción antibacteriana fue la oxacilina y los tratamientos evaluados fueron el extracto en concentraciones del 25, 50, 75 y 100 %, luego las placas Petri fueron incubadas por un periodo de 24 h, y se midieron el diámetro de los halos inhibitorios. Se encontró que el extracto de ajo tubo un rendimiento del 10%, además de contener terpenos, componentes sulfurados, vinilditinas, aliña y saponinas, donde el mejor efecto lo presento el extracto pudo con una eficacia del 79.41%. Se logró concluir que el extracto de ajos posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

Palabras clave: Actividad antibacteriana, extracto etanólico, *Allium sativum*, ajo, *Staphylococcus aureus*.

3 Abstract

The present investigation sought to evaluate the antibacterial activity of the ethanolic extract of *Allium sativum* (garlic) bulbs against *Staphylococcus aureus*. Where the extract of garlic bulbs and strains of *Staphylococcus aureus* were used, five Petri dishes containing the bacterial culture were used, then three filter paper discs were soaked with the treatments and placed on the Petri dish equidistantly: The standard pharmacological with which the antibacterial action was compared was oxacillin and the treatments evaluated were the extract in concentrations of 25, 50, 75 and 100%, then the Petri dishes were incubated for a period of 24 h, and the diameter of the inhibitory halos. It was found that the garlic extract had a yield of 10%, in addition to containing terpenes, sulfur components, vinyliditines, seasoning and saponins, where the best effect was presented by the extract with an efficiency of 79.41%. It was concluded that garlic extract has antibacterial activity against *Staphylococcus aureus*.

Keywords: Antibacterial activity, ethanolic extract, *Allium sativum*, garlic, *Staphylococcus aureus*.

4 Introducción

Antecedentes y fundamentación científica

Sánchez en el (2019), estudio el efecto antibacteriano del extracto de los frutos del ajo y cebolla, enfrentados con *Staphylococcus aureus* (E.A). Se prepararon 36 placas Petri conteniendo cultivos de cultivo de *S. aureus*, las placas fueron distribuidas en seis grupos y cada placa contenía cuatro discos de sensibilidad bacteriana por cada placa; el grupo control negativo contenía 20µl de solución salina, otro disco con el antibiótico vancomicina 30 ug, y discos con los tratamientos experimentales conteniendo 20µl el extracto de ajos al 85 y 100% y otros dos con extracto de cebolla al 85% y 100% respectivamente. Al medir los halos de inhibición después de 1 día incubación de los cultivos a 37° C, se obtuvieron valores de 6 mm; 16.2 mm, 22.5 mm; 24.2 mm; 14 mm; 11.6 mm respectivamente. Se concluyó que los extractos de ajo y cebolla inhiben el crecimiento de *S. aureus* siendo las eficaces las concentraciones de 85% y 100% mayores a vancomicina.

Segovia, et al., (2019). Estudiaron como los extractos crudos de ajo afectaban el crecimiento *Aspergillus parasiticus* y *A niger*, microorganismos productores de aflatoxinas, micotoxinas y ocratoxinas que son dañinos para cultivos de cereales, frutos secos y algodón. El extracto de ajo fue preparado por maceración y la actividad antibacteriana se midió considerando el tamaño del halo de inhibición y las unidades formadoras de colonias (UFC), concentración mínima inhibitoria (CMI) y de la concentración fungicida, empleando la microscopía de luz visible. El ajo logró una inhibición de hasta 12 y 15 mm par *A. parasiticus* *A niger* con una eficacia del 13 y 46,8% respectivamente. Fue de 1:2 (50 µl de extracto) para *A parasiticus* y 1:32 (3.12 µl de extracto). Además, se logró inhibir la producción de micelios y el proceso de esporulación de los dos hongos. El extracto de ajo presentó efecto antimicótico frente a *A. parasiticus* y *A. niger*.

En el trabajo de Requejo & Callao. (2021) buscaron determinar el efecto del extracto alcohólico del chamico (*Datura stramonium*) y ajos sobre el microorganismo *Staphylococcus aureus*. Para determinar el efecto antibacteriano se utilizó el de Kirby Bauer de difusión en disco. Los resultados evidenciaron un de halos de inhibición inicial de 6.4mm, 6.3mm, 6.2mm y un final de 20,43mm, 17.2mm y 10.7mm para las concentraciones al 100, 75 y 50% correspondientemente. Finalmente se encontró que los extractos presentaron efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

Hernández et al., (2019), estudiaron las propiedades medicinales del té verde, es un producto originario de China y cultivado en Asia y África central. Se suelen consumir las hojas en infusión debido al contenido de flavonoides y catequinas como el galato de epigallocatequina, las catequinas tienen propiedades de disminuir el riesgo cardiovasculares, por todo ello se busca realizar un trabajo de revisión sobre el té verde y su uso en problemas cardiacos y debido la presencia de los metabolitos secundarios como las catequinas reducen el peso corporal y sobre la síntesis de ácidos grasos, así también tiene actividad antioxidante, reducen el colesterol, con efecto antitrombótico. Estudios sugieren un consumo superior a siete tazas de té, que equivale a 3,5 g de catequinas.

Moscardini et al., (2020) comparó la eficacia antimicrobiana del té verde y su extracto epigallocatequina-3-galato aplicado en niños de 5-12 años preparado como un enjuague bucal para evitar la caries, se observó un efecto bacteriano de tipo significativo frente a estreptococos mutans ($p_{CHX}=0.001$; $p_{EGCG}=0.001$; $p_{TéVerde}=0.005$; $p_{Agua\ destilada}=0.018$) y lactobacilos ($p_{CHX}=0.001$; $p_{EGCG}=0.002$; $p_{TéVerde}=0.008$; $p_{Agua\ destilada}=0.033$). El porcentaje de reducción microbiana de ambos microorganismos fueron mayores con el té verde y solución salina. Se concluyó que la solución de EGCG disminuyó los niveles de *E. mutans* y lactobacilos en la cavidad oral de los niños, siendo el té verde una alternativa como enjuague bucal antibacteriano como la clorhexidina.

Acosta y Armas (2022) buscaron determinar como el extracto alcohólico del té verde y propoleo afecta a la actividad antibacteriana empleando concentraciones del 10, 20 y 30% durante 24 y 48 horas *Streptococcus mutans*. El método empleado fue experimental, comparativo e in vitro, el muestreo fue no probabilístico con el empleo de 150 discos de papel, diseminados en 30 placas Petri conteniendo agar sangre con inóculos de *Streptococcus mutans*, se colocan 03 discos conteniendo el extracto 10, 20 y 30%, también se colocó un disco en clorhexidina 0.12% (considerándose el control positivo) y un disco en agua destilada, luego fueron incubadas durante 24 y 48 horas, luego se midieron los halos de inhibición. Se encontró que los halos de inhibición disminuyeron con la concentración del extracto y la exposición frente al microorganismo.

***Allium sativum* (ajo).**

El ajo (*Allium sativum*) es una especie que pertenece a la familia Amaryllidaceae, es originario de Asia Central y luego migró hacia Arabia, Egipto, India, China y al Mediterráneo, se emplea su raíz bulbosa que tiene de 6 a 12 bulbillos los que se unen por su base, formando la cabeza del ajo (Bender & Bárcenas, 2013).

El ajo es empleado de hace mucho tiempo atrás para elaborar alimentos, dentro de ellos condimentos, inclusive para preparar medicamentos (Torija, Matallana, & Chalup, 2013).

También el ajo es empleado como extractos acuosos ya que llegan a impedir la proliferación de hongos. A la fecha se han reportado más de 100 compuestos biológicamente activos derivados del bulbo de ajo, asociada a la presencia de su metabolito activo aliína donde que por acción de la enzima aliinasa la transforma en esencia de ajo y la levulosa. La esencia del ajo obtenida tiene alicina, a la misma que se le atribuye la *actividad* antimicrobiana y antimicótica, anticáncida y contra diversos hongos, sobre todo dermatofitos y las levaduras patógenas comunes en el hombre (Tagoe, 2011).

Existen trabajos de investigación donde los extractos acuosos de ajo obtenidos por arrastre de vapor con agua y los extractos alcohólicos contra *Fusarium oxysporum* pero fue el extracto acuoso el mejor con casi 95% de actividad fungicida ((Ankri, 1999) Villa et al., 2014). El mecanismo de acción por el cual el ajo tiene efecto antibacteriano, es reduciendo la absorción del oxígeno, disminuyen el crecimiento, dañan las membranas celulares e inhiben la síntesis de proteínas, lípidos, y ácidos nucleicos (Bender & Bárcenas, 2013).

Efecto antibacteriano

Se refiere a la habilidad de inhibir el crecimiento o eliminar un microorganismo independientemente si es un virus, una bacteria, un hongo o un protozooario, dependiendo sobre cuántos microorganismos trabaja puede ser de amplio espectro o de estrecho margen farmacoterapéutico (Díaz, 2019).

Existe una marcada resistencia a los antimicrobianos por lo tanto es indispensable el reevaluar los tratamientos farmacológicos debido a la disminución de la eficacia y prevención, así mismo la automedicación de los antibióticos hacen que los microorganismos se vuelvan resistentes, motivando al cambio de los medicamentos y así mismo incrementando las reacciones adversas y efectos secundarios (Resistencia a los antimicrobianos, 2022).

Justificación de la investigación

Se puede justificar teóricamente ya que brindará nueva información referente a la especie vegetal ajo, se mostrará sus usos farmacológicos, las reacciones adversas, metabolitos activos, posibles mecanismos de acción entre otra información relevante.

Metodológicamente, este proyecto empleará una metodología experimental aplicada con ciertas modificaciones o adecuaciones, lo que puede ser tomado en cuenta en futuras investigaciones, así también la información recopilada será ordenada en una ficha de recolección de datos conteniendo. Las fichas y el método serán de gran ayuda para el ordenamiento y sistematización de los valores obtenidos en la investigación.

Por otro lado, se justifica socialmente porque este producto medicinal podría reemplazar a los medicamentos tradicionales, ya que por la duración de tratamiento y la composición de los mismos suele ser muy costoso, así también el consumo de antibióticos trae consigo muchos efectos adversos y reacciones medicamentosas, de tal manera que con el extracto de ajo podría minorar estos efectos negativos.

Problema

¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?

Conceptuación y operacionalización de las variables

| Definición conceptual de la variable | Dimensiones (factores) | Indicadores | Tipo de escala de medición |
|---|---------------------------------------|--|----------------------------|
| <p>Antibacteriano: Los antibióticos son sustancias que pueden tener diversos orígenes, algunos son producidos por hongos como el <i>Penicilium notatum</i> (se obtiene la penicilina por purificación) y otros se obtiene por síntesis química y pueden funcionar inhibiendo el crecimiento del patógeno (bacteriostáticos) y otros eliminando al microorganismo (bactericida), también es importante mencionar que el mecanismo de acción más frecuente es trabajar debilitando la pared celular, síntesis de proteínas o impidiendo la formación de alimento de la bacteria (Sader, 2002).</p> | Inhibición del crecimiento bacteriano | Longitud del diámetro del halo de inhibición a) mm b) cm | Nominal |
| <p><i>Allium sativum</i> (ajo): El ajo es una especie proveniente de Asia central, con elevado</p> | Estudio de compuestos activos | Metabolitos bioactivos. a) abundante. | Ordinal |

| | | | |
|--|--|---|--|
| <p>contenido de vitaminas como b-6, vitamina C y selenio, contiene elevada cantidad de compuestos fenólicos de ahí su propiedad antioxidante su vuelvo contiene aliína que es un disulfuro de alilo, se emplea para tratar problemas de hipertensión, diabetes, hipercolesterolemia, antimicrobiana, antifúngica, anticancerígena, etc. (Ingaroca et al., 2019).</p> | | <p>b) Regular. c) Poco. Ausencia.</p> | |
|--|--|---|--|

Hipótesis

Hipótesis alternativa:

Ha= El extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) tiene efecto sobre el desarrollo antibacteriano del frente a *Staphylococcus aureus*.

Hipótesis nula:

Ho= El extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) no tiene efecto sobre el desarrollo antibacteriano del frente a *Staphylococcus aureus*.

Objetivos

Objetivo general

Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

Objetivos específicos

1. Obtener el extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo).
2. Realizar el estudio fitoquímico del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo).
3. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

5 Metodología

a) Tipo y diseño de investigación

Tipo de investigación

Las investigaciones pueden ser de tipo básica porque produce o logra nueva información o también pueden ser analítica porque emplea la información encontrada en la básica para ser utilizada en nuevas investigaciones y demostrarse ciertas hipótesis (Rodríguez, 2020). En este trabajo es de tipo básico porque brindaremos información nueva sobre el empleo del extracto de ajos en el tratamiento de enfermedades bacterianas.

Diseño de la investigación

La investigación puede presentar diseño no experimental cuando no manipula variables o puede ser experimental ya que, si puede manipular las variables independiente de manera intencional, para observar como se altera la variable dependiente (Hernández et al., 2006). Nuestra investigación es experimental y busca evaluar el efecto del extracto de ajo (variable independiente) sobre la actividad antibacteriana (variable dependiente) teniendo en consideración lo siguiente:

| Grupos farmacológico | tratamiento |
|-----------------------------|--------------------|
| Grupo experimental 1 | oxacilina 1 µg |
| Grupo experimental 2 | E. ajo 25 % |
| Grupo experimental 3 | E. ajo 50 % |
| Grupo experimental 4 | E. ajo 75 % |
| Grupo experimental 5 | E. ajo 100 % |

b) **Población, muestra y muestreo**

Población

Las investigaciones requieren que la población a ser estudiada debe de tener características en común, como ubicación geográfica, nivel socioeconómico, algún fenómeno en común, pero que es de interés del investigador, esta población podría estar conformado por personas, objetos, archivos, dependiendo lo que desee estudiar el investigador (Arias, et al., 2016), Nuestra población estuvo conformado por cepas de *Staphylococcus aureus*.

Criterios de inclusión

- Se consideraron solo cepas de *Staphylococcus aureus*
- Solo se trabajaron bulbos frescos de ajos.

Criterios de exclusión

- Se diferentes a *Staphylococcus aureus*
- No se consideran bulbos mal conservados

Muestra

La muestra de investigación es un grupo más pequeño de la población, escogidos por sus características, deben ser seleccionadas en cantidad idóneas que permitan un adecuado análisis estadístico (Hernández, et al., 2014). Nuestra muestra estará conformada por microorganismos del tipo *Staphylococcus aureus* cepa ATCC25923 y bulbos de ajos.

Muestreo

Según Kinnear y Taylor en el año del 1998 consideraron que el muestreo puede ser probabilístico debido a que como los integrantes de la población tiene características muy similares como edad, sexo, ubicación geográfica o fenómenos comunes estos pueden ser seleccionados al azar, como también el muestreo puede ser no probabilístico debido a que a las condiciones muy ajustadas y con características muy especiales los miembros de la población tiene que ser seleccionados de manera muy cuidadosa, por lo mencionado nuestro muestro para esta investigación es probabilístico.

c) Técnicas e instrumentos de investigación

Obtención de la muestra vegetal:

Para obtener nuestra muestra vegetal recurrimos a un mercado de abastos denominado La Perla ubicado en la ciudad de Chimbote, donde se seleccionaron los bulbos frescos de ajos, la cantidad empleada fue de 250 g, la misma que se colocó en una caja de cartón agujereada y conteniendo en la base de la caja papel craft para evitar la humedad, luego los bulbos fueron pelados colocados a la sombra (Lock de Ugaz, O. 1994).

Obtención del extracto (CYTEC, 1995)

Para elaborar el extracto etanólico de los bulbos de ajos, los bulbos de ajos, los ajos fueron triturados en un mortero de porcelana y se redujo de tamaño con la presencia de etanol de 96°, luego se diluyo la pasta de ajo en una proporción 1:1 con etanol y se colocaron en maceración en una botella de color ámbar durante 7 días, posterior a ello, se extrajo el sobrenadante y se colocó en una fuente de vidrio que se llevó a un horno de bandejas para la eliminación del solvente, el residuo obtenido en la fuente se recogió haciendo uso de un bisturí y se colocó en un frasco con tapa y se refrigeró hasta su posterior uso.

Determinación el porcentaje de rendimiento del extracto de ajos (% R)

La cantidad de extracto obtenido se mide mediante una fórmula denominada porcentaje de rendimiento, que lo que mide es, la cantidad de extracto obtenido a partir de 100 gramos de materia prima inicial multiplicado por 100, según la ecuación que se muestra: % R.= (Peso obtenido de extracto puro/Peso de muestra empleada) X 100

Estudio fisicoquímico del extracto de ajos (Lock de Ugaz, 2017).

El estudio de los componentes del extracto de ajos permitió identificar la presencia de las sustancias presentes en el extracto de ajos, empleando la búsqueda bibliográfica.

Preparación de los discos saturados con Oxacilina

El estándar farmacológico es de vital importancia ya que será la sustancia con la cual se va a comparar la eficacia de los medicamentos. Los discos de papel de un diámetro promedio de 6 mm previamente serán auto clavados a unos 120°C durante 15min y se les impregnarán con 1µg de Oxacilina, luego serán secados y se colocarán sobre la superficie de las placas Petri sembradas (Kirby – Bauer, 1996).

Prueba de agar en placa conteniendo cepas bacterianas.

Se inicia con la preparación de una suspensión de cepas bacterianas empleando como solvente solución de suero fisiológico llevándolos a un concentración de 3×10^8 bacterias/ml, para tal fin se requerirá de un nefelómetro. Se realiza una siembra de los microorganismos en la placa Petri la misma que previamente contiene agar Müller Hinton. Luego se colocarán en una incubadora a 37° C por 15 minutos. Luego se impregnarán los discos con los demás tratamientos, luego se colocarán en incubación

a 37°C, durante 24h. Luego se midieron los halos de inhibición del crecimiento bacteriano haciendo uso de un vernier (Kirby – Bauer, 1996).

Instrumento

Para la recopilación de los diámetros de los halos de inhibición se creó una tabla de recolección de datos, el mismo contenía los grupos farmacológicos, tratamientos y diámetros de halos en milímetros.

d) Procesamiento y análisis de la información

El procesamiento de los datos obtenidos serán colocados en el instrumento elaborado como es el caso de una tabla de recolección, con ello se procederá a promediar los diámetros de los halos de inhibición y elaborar figuras y tablas que serán expuestas en la sección de resultados, además se realizará un análisis descriptivo y análisis de varianza de una sola entrada, los mismos que se expondrán en la sección de los anexos, cabe recalcar que los análisis estadísticos harán uso del programa Excel y se considerarán una significancia y confiabilidad del 95% como lo sugiere (Valderrama, 2015).

6 Resultados

Tabla 1

Porcentaje de rendimiento del extracto de los bulbos de ajos.

| Muestra utilizada inicialmente | Cálculo |
|--|--|
| De 250 gramos de bulbillos de ajo para elaborar el extracto se obtuvo 25 gramos, por tanto, de cada 100 gramos sólo se produjo 10 gramos de extracto etanólico | Fórmula: $\%R = \frac{\text{Cantidad de extracto}}{\text{Cantidad de muestra empleada}} \times 100$ $\%R = (10 \text{ g}/100) \times 100 = 10 \%$ $\%R = 10\%$ |

En la tabla 1 se muestra el porcentaje de rendimiento del extracto de los bulbos de ajos cada 100 gramos, obteniéndose un rendimiento del 10%

Tabla 2

Estudio de los componentes fisicoquímicos del extracto de los bulbos de ajos.

| Solubilidad de componentes | componentes | propiedades |
|-----------------------------------|--|---|
| Lipofílico | Alicina, disulfuros, ajoeno, vinilditinas. | bactericida, acaricida, antihelmíntico, antimicótico, insecticida, hipolipemiente, hipocolesterelomiente. |
| hidrofílico | aliña y alicina saponinas | reductoras de colesterol. |

La tabla 1. Indica los componentes presentes en el extracto de ajos conteniendo disulfuros, vinilditinas, aliña, alicina y saponinas.

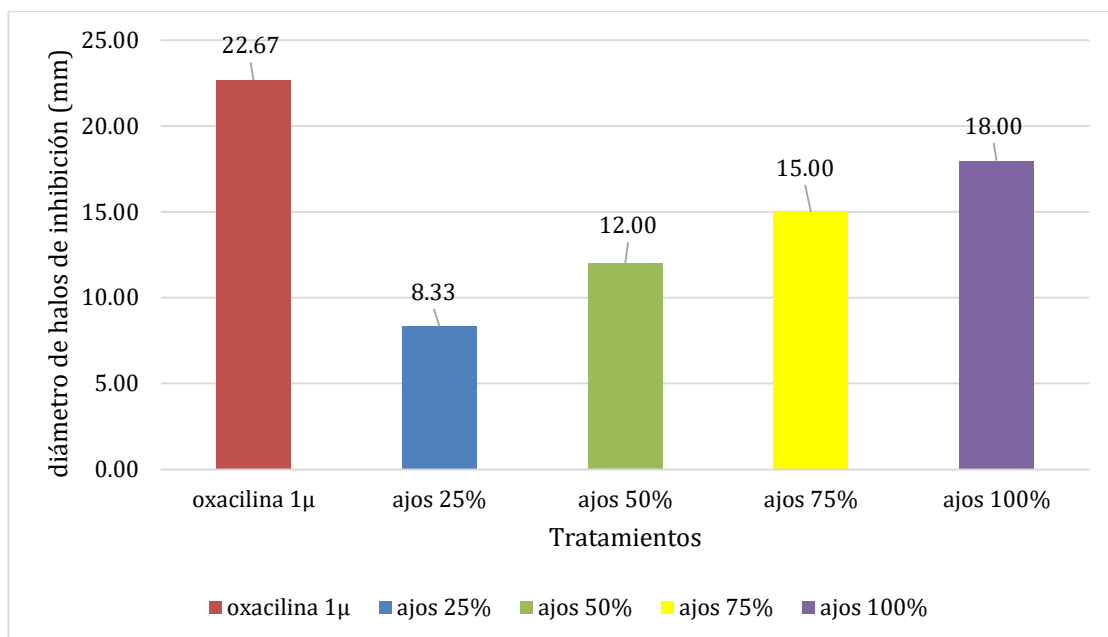


Figura 1. Diámetro de inhibición del crecimiento bacteriano al evaluar el extracto de ajos sobre *Staphylococcus aureus*.

La figura 1. Muestra el tamaño de los halos de inhibición, donde la oxacilina mostró una inhibición de 22.67 mm, así mismo el extracto de ajos fue 8.33, 12, 15, 18 mm a concentraciones de 25, 50, 75 y 100% correspondientemente.

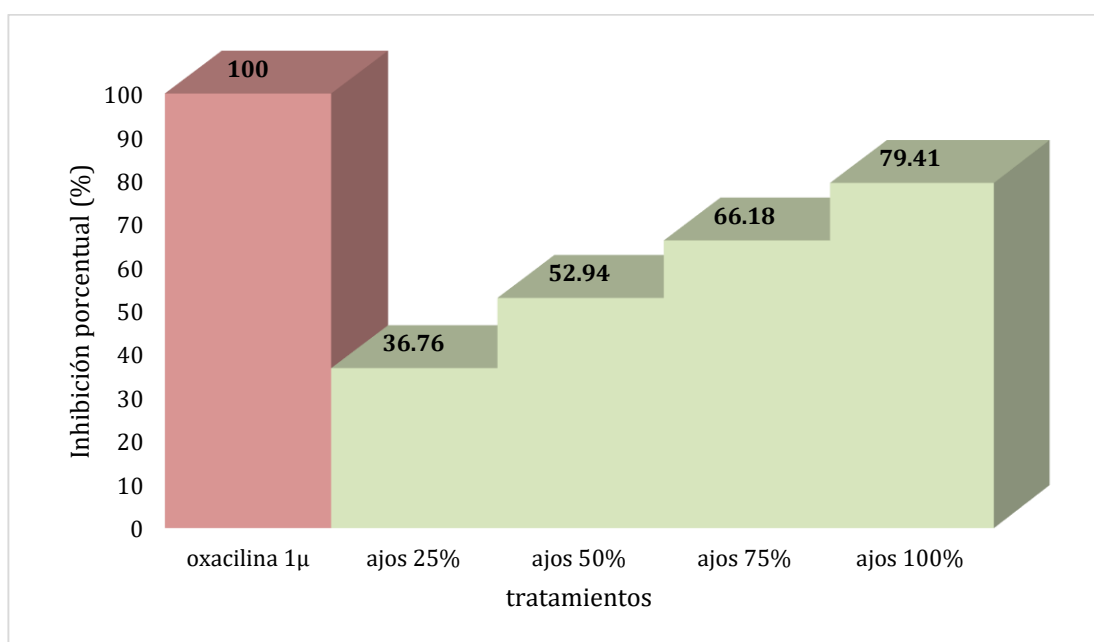


Figura 2 Inhibición porcentual antibacteriana del extracto de ajos sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

La figura 2. Muestra la eficacia porcentual antibacteriana donde la oxacilina con una actividad del 100%, el extracto de ajos al 25% con una eficacia del 36.76%, el ajo al 50% con una eficacia del 52.94%, con el extracto al 75% con una eficacia del 66,18%; y el extracto a dosis del 100% fue de 79,41% de eficacia.

7 Análisis y discusión

Los ajos es un producto utilizado dentro de la culinaria, además de ser empleado por sus propiedades antibacterianas, antimicóticas entre otras, por lo tanto es necesario saber la cantidad de muestra inicial se requiere para lograr los objetivos, en la tabla 1 se observa que el rendimiento porcentual del extracto de ajos fue del 10%.

También se aprecia la composición química de ajos lipofílico como licinas y terpenos como ajoeno, cuyas principales propiedades son contra hongos, bacterias, insectos y bajando el colesterol, además los compuestos hidrofílicos como la aliña, alicina y saponinas, reducen el colesterol (tabla 2), así mismo Hernández et al., (2019) y Mora y et al., (2018) asociaron la actividad antibacteriana a la presencia de componentes azufrados y saponinas.

La figura 1 se muestra el diámetro de los halos de inhibición del extracto de ajos frente a *Staphylococcus aureus* del grupo oxacilina fue de 22,67 mm, y los grupos que recibieron el extracto de ajos (EA) fueron 8.33 mm (EA 25%), 12.00 mm (EA 50%), 15.00 mm (EA 75%) y de 18.00 mm (EA 100%). Así mismo en la figura 2 se observa el porcentaje de eficacia antibacteriana del EA frente a *S. aureus*, donde el grupo oxacilina presentó una eficacia antibacteriana del 100%, también se encontró eficacias del 36.76% (EA 25%), de 52.94% (EA 50%), 66.94% (EA 75%) y de 79.41% (EA 100%), además Moscardini et al., (2020) encontró que la especie *Camellia sinensis* mejor conocida como té verde tiene efecto antibacteriana frente a infecciones bucales, así mismo Sherwani et al., (2018) asocio el efecto antibacteriano a la presencia de diversos componentes metabolitos activos como los terpenos y saponinas, además

de contener componentes sulfurados, donde el posible mecanismo de acción se relaciona a la inhibición de la formación de la pared bacteriana, inhibición de la formación de proteínas, también se observó que al ser dosis dependiente podría tener efecto bactericida a altas dosis y bacteriostático a baja dosis.

8 Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- 1) El extracto etanólico de los bulbos de ajo presentaron un porcentaje de rendimiento del 10%
- 2) Los principales componentes fisicoquímicos encontrados fueron la alicina, terpenos, componentes azufrados, vinilditinas, aliña y saponinas.
- 3) La mayor actividad antibacteriana se presentó con el extracto de ajos puro con una eficacia del 79.41%
- 4) Se concluye que los bulbos de ajo como extracto etanólico tiene efecto antibacteriano frente a *Staphylococcus aureus*.

Recomendaciones

- 1) Determinar la actividad antibacteriana de extractos acuosos, alcohólicos e hidroalcohólicos.
- 2) Evaluar la actividad antibacteriana empleando un modelo farmacológico in vivo.
- 3) Se requiere encontrar la concentración mínima inhibitoria del extracto de ajo.

9 Referencia Bibliográfica

- Acosta, J., Armas, A. (2022). Efecto antibacteriano del extracto etanólico de *Camellia sinensis* y propóleo, frente a cepas de *Streptococcus mutans*. *Odontol Sanmarquina* [Internet]. 11 de abril de 2022 [citado 5 de octubre de 2022];25(2):e21298. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/21298>
- Ankri, S., & Mirelman, D. (1999). Antimicrobial Properties of Allicin from Garlic. *Microbes and Infection*, 2, 125-129.
- Bender, D., & Bárcenas, M. E. (2013). El ajo y sus Aplicaciones en la Conservación de Alimentos. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 7, 25-36
- CYTED. (1995). Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. *Manual de técnicas de investigación*; 220.
- Díaz, C. (2019). Actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de matico (*piper aduncum*) sobre (*staphylococcus aureus*) - Jaén. Jaén, Perú: Universidad Nacional de Jaén carrera profesional de tecnología médica con especialidad en laboratorio clínico y anatomía patológica. Obtenido de <file:///C:/Users/youis/Downloads/tesis%20nacional%20matico%201.pdf>
- Dey, R., Bruno J. (2022). Bioactividades antiinflamatorias a nivel intestinal del té verde rico en catequinas: justificación, diseño y métodos de un ensayo

cruzado doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo en síndrome metabólico y adultos sanos. vol. 17. Clave Clínica; 2020.

Fournier-Larente, J., Morin, M-P., Grenier, D. (2018). Green tea catechins potentiate the effect of antibiotics and modulate adherence and gene expression in *Porphyromonas gingivalis*. Arch Oral Biol [Internet]. 2016 [citado el 26 de octubre de 2022];65: 35–43. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26849416/>

Gavilanes, Y. E. (2018). “Comprobación de la eficacia clínica del extracto de matico (*pipe rangustifolium*) en la evolución de la cicatrización de heridas de la mucosa bucal en pacientes que acuden a la unidad de atención odontológica uniandes”. Ambato, Ecuador: Universidad regional autónoma de los andes facultad de ciencias médicas carrera de odontología. Obtenido de <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/7341/1/PIUAODONT052-2017.pdf>

Hernández, R., Fernández, C. & Baptista, P. (2006). Metodología de la Investigación. México: Mc Graw Hill.

Hernández, R., Fernández, C y Baptista, M. (2014). Metodología de la investigación sexta edición. México D.F, México: McGRAW –HILL.

Hernández, F., Rodríguez-Rodríguez, E., Sánchez-Muniz, F. (2004). El té verde ¿una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares? Arch Latinoam Nutr [Internet]. 2004 [citado el 31 de octubre de 2022];54(4):380–

94. Disponible en:

https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222004000400003

Kinnear, C y Taylor, R. (1998). Investigación de mercados. México. Mc. Graaw Hill.

Kirby, W., Bauer, A. (1996). Antibiotic suceptibility testing by a standarizer single method. *Am. J Clinic Pathol* 45: 493 – 496.

Lock, O. (2018). Generalidades sobre el análisis fitoquímico. En *Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales* (3.a ed.). Recuperado de http://167.249.11.60/anc_j28.1/index.php?option=com_content&view=article&id=333:3ra-edicion-del-libro-investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales-de-a-t-dra-olga-lock&catid=61

Luengo, L., Tránsito, M. (2022). El té verde. *Offarm* [Internet]. 2002 [citado el 31 de octubre de 2022];21(5):129–32. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-el-te-verde-13032231>

Melo, J., Sousa, J., Firmino, R., Matins, C., Granville-Garcia, A., Nonaka, C., et al. (2021). Different applications forms of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) for the treatment of periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res* [Internet]. 2021 [citado el 26 de octubre de 2022];56(3):443–53. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33729563/>

Mora, A., Parra, J., Chaverri, J.M., Arias, M.L. (2018). Determinación de la capacidad antimicrobiana del té verde (*Camellia sinensis*) contra los agentes potencialmente patógenos *Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. *Arch Latinoam Nutr* [Internet]. 2013 [citado el 30 de noviembre de 2022];63(3):247–53. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222013000300008

Moromi, H., Martínez, E., Villavicencio, J., Burga, J., Ramos, D. (2018). Efecto antimicrobiano in vitro de la *Camellia sinensis* sobre bacterias orales. *Odontol Sanmarquina* [Internet]. 16 de julio de 2007 [citado 5 de octubre de 2022];10(1):18-20. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/odont/article/view/2898>

Musial, C., Kuban-Jankowska, A., Gorska-Ponikowska, M. (2022). Beneficial properties of green tea catechins. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2020 [citado el 26 de octubre de 2022];21(5):1744. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32143309/>

Requejo Ramos, M. C., & Callao Rodriguez, J. L. (2021). Actividad antibacteriana in vitro del extracto etanólico de *Datura stramonium* (chamico) y *allium sativum* (ajo) sobre *Staphylococcus aureus*.

- Resistencia a los antimicrobianos (2022). [Internet]. Paho.org. [citado el 30 de noviembre de 2022]. Disponible en: <https://www.paho.org/es/temas/resistencia-antimicrobianos>
- Rodríguez, D. (2020). Investigación básica: características, definición, ejemplos. Lifeder. Recuperado de <https://www.lifeder.com/investigacion-basica/>.
- Sánchez Vásquez, J. (2019). Efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso del fruto de *Allium cepa* (cebolla) Y *Allium sativum* (AJO) EN *Staphylococcus aureus*.
- Segovia, K. G. J., García, E. D. J. D., Canseco, M. D. S. P., López, M. D. M., Santiago, A. D. P., & Medina, M. A. S. (2019). Efecto de extractos crudos de ajo (*allium sativum*) sobre el desarrollo de *Aspergillus parasiticus* Y *Aspergillus niger* in vitro. *Polibotánica*, (47), 99-111.
- Sherwani, F., Aziz, T., Siddiqui, S. Akhter, W. (2022). Ahmed, S.S.U.K. Kazmi. A murine gastritis model to study antibacterial effect of *Camellia sinensis* (Green Tea) against *H.pylori* infection. [citado el 26 de octubre de 2022]; Disponible en: <http://www.sciencedirect.com>
- Tagoe, D. N., Nyarko, H. D., & Akpaka, R. (2011). A Comparison of the Antifungal Properties of Onion (*Allium cepa*), Ginger (*Zingiber officinale*) and Garlic (*Allium sativum*) against *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* and *Cladosporium herbarum*. *Medicinal Plant*, 5(3), 281-287. <https://doi.org/10.3923/rjmp.2011.281.287>

- Torija, E., Matallana, C., & Chalup, N. (2013). El Ajo y la Cebolla: de las Medicinas Antiguas al Interés Actual. *Boletín de la Real Sociedad Española de Historia Natural Sección Biología*, 107, 29-37
- Valenzuela, B. (2004). El Consumo Te y la Salud: Características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. *Rev Chil Nutr [Internet]*. 2004 [citado el 29 de noviembre de 2022];31(2):72–82. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182004000200001&script=sci_arttext
- Vaisberg, A (2018). Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Perú. *Journal of ethnopharmacology*, 55(3), 193-200.
- Valderrama, S. (2015). Pasos para elaborar proyectos de investigación científica (2.a ed., Vol. 1). Alianza Editorial.
- Villa, A., Pérez, R., Morales, H., Basurto, M., Soto, J., & Martínez, E. (2014). Situación Actual en el Control de *Fusarium* spp. y Evaluación de la Actividad Antifúngica de Extractos Vegetales. *Acta Agronómica*, 64(2), 194-205. <https://doi.org/10.15446/acag.v64n2.43358>
- Yen-Chi, L., Lu-Fang, H., Ling-Yu, H., Yueh-Yun, L. (2022). Effectiveness of green tea mouthwash for improving oral health status in oral cancer patients: A single-blind randomized controlled trial. [citado el 26 de octubre de 2022]; Disponible en: www.elsevier.com/ijns

Zahra, K., Mitra, M., Farhad, S., Fatemeh, D., Negar, A. (2022). Green tea as an adjunctive therapy for treatment of acute uncomplicated T cystitis in women: A randomized clinical trial. [citado el 26 de octubre de 2022]; Disponible en: www.elsevier.com/locate/ctcp

10 Agradecimiento

A Nuestro creador por su fuerza y sabiduría

A mi Papá y Mamá por estar siempre a mi lado

A mis amigos y familiares por haber estado en momentos difíciles

A mis profesores de farmacia por sus enseñanzas

Gracias

11 Anexos

Anexo 1

Ficha de recolección de datos

| Tratamientos | <i>S. aureus</i> (mm) |
|--------------|-----------------------|
| | 22 |
| oxacilina 1μ | 21 |
| | 25 |
| | 9 |
| ajos 25% | 9 |
| | 7 |
| | 12 |
| ajos 50% | 13 |
| | 11 |
| | 15 |
| ajos 75% | 14 |
| | 16 |
| | 19 |
| ajos 100% | 18 |
| | 17 |

Anexo 2

Matriz de consistencia

| Problema | Variables | Objetivos | Hipótesis | Metodología |
|---|-----------------------------|--|---|---|
| ¿Cuál será el efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> ? | Antibacteriano | <p>Objetivo general</p> <p>Determinar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Obtener el extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo). 2. Realizar el estudio fitoquímico del extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo). 3. Evaluar el efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i>. | <p>Hipótesis alternativa:</p> <p>Ha= El extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) tiene efecto sobre el desarrollo antibacteriano del frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> <p>Hipótesis nula:</p> <p>Ho= El extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) no tiene efecto sobre el desarrollo antibacteriano del frente a <i>Staphylococcus aureus</i>.</p> | <p>Tipo de Investigación: Básica</p> <p>Diseño de Investigación: Experimental</p> <p>Población: <i>Staphylococcus aureus</i></p> <p>Muestra: <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.</p> <p>Técnica e Instrumento de recolección de datos: Se utilizó la técnica de la observación y como instrumento una tabla de recolección de datos.</p> |
| | <i>Allium sativum</i> (ajo) | | | |

Anexo 3

Estadística descriptiva de los datos obtenidos al evaluar el antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de ajo frente *Staphylococcus aureus*.

| <i>parámetros</i> | Oxacilina 1μ | ajos 25% | ajos 50% | ajos 75% | ajos 100% |
|------------------------------|-----------------|--------------|-------------|-------------|------------|
| Media | 22,66666667 | 8,333333333 | 12 | 15 | 18 |
| Error típico | 1,201850425 | 0,666666667 | 0,577350269 | 0,577350269 | 0,57735027 |
| Mediana | 22 | 9 | 12 | 15 | 18 |
| Moda | #N/A | 9 | #N/A | #N/A | #N/A |
| Desviación estándar | 2,081665999 | 1,154700538 | 1 | 1 | 1 |
| Varianza de la muestra | 4,333333333 | 1,333333333 | 1 | 1 | 1 |
| Curtosis | #¡DIV/0! | #¡DIV/0! | #¡DIV/0! | #¡DIV/0! | #¡DIV/0! |
| Coficiente de asimetría | 1,293342781 | -1,732050808 | 0 | 0 | 0 |
| Rango | 4 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| Mínimo | 21 | 7 | 11 | 14 | 17 |
| Máximo | 25 | 9 | 13 | 16 | 19 |
| Suma | 68 | 25 | 36 | 45 | 54 |
| Cuenta | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Nivel de confianza(95,0%) | 5,171145013 | 2,868435153 | 2,484137712 | 2,484137712 | 2,48413771 |

Anexo 4

Análisis de varianza de los datos obtenidos al evaluar el antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de ajos frente a *Staphylococcus aureus*.

Análisis de varianza de un factor

| RESUMEN | | | | | |
|-------------------|--------|------|------------|------------|--|
| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza | |
| Oxacilina 1 μ | 3 | 68 | 22,6666667 | 4,33333333 | |
| ajos 25% | 3 | 25 | 8,33333333 | 1,33333333 | |
| ajos 50% | 3 | 36 | 12 | 1 | |
| ajos 75% | 3 | 45 | 15 | 1 | |
| ajos 100% | 3 | 54 | 18 | 1 | |

| ANÁLISIS DE VARIANZA | | | | | | |
|---------------------------|-------------------|--------------------|---------------------------|------------|--------------|----------------------|
| Origen de las variaciones | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Promedio de los cuadrados | F | Probabilidad | Valor crítico para F |
| Entre grupos | 363,066667 | 4 | 90,7666667 | 52,3653846 | 1,1338E-06 | 3,47804969 |
| Dentro de los grupos | 17,3333333 | 10 | 1,73333333 | | | |
| Total | 380,4 | 14 | | | | |

REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL
FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN PARA LA PUBLICACIÓN DE DOCUMENTOS DE INVESTIGACIÓN

| | | | |
|---|---|---|--|
| 1. Información del Autor | | | |
| Rodríguez Sáenz Thalia Emilyn | | 76055970 | Thalia_emy_2016@hotmail.com |
| Apellidos y Nombres | | DNI | Correo Electrónico |
| 2. Tipo de Documento de Investigación | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Tesis | <input type="checkbox"/> Trabajo de Suficiencia Profesional | <input type="checkbox"/> Trabajo Académico | <input type="checkbox"/> Trabajo de Investigación |
| 3. Grado Académico o Título Profesional ¹ | | | |
| <input type="checkbox"/> Bachiller | <input checked="" type="checkbox"/> Título Profesional | <input type="checkbox"/> Título Segunda Especialidad | <input type="checkbox"/> Maestría <input type="checkbox"/> Doctorado |
| 4. Título del Documento de Investigación | | | |
| Efecto Antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de <i>Allium sativum</i> (ajo) sobre el desarrollo de <i>Staphylococcus aureus</i> . | | | |
| 5. Programa Académico | | | |
| "Farmacia y Bioquímica" | | | |
| 6. Tipo de Acceso al Documento | | | |
| <input checked="" type="checkbox"/> Abierto o Público ² (<i>info@u-repo/semantics/openAccess</i>) | | <input type="checkbox"/> Acceso restringido ⁴ (<i>info@u-repo/semantics/restrictedAccess</i>) ⁵ | |
| [*] En caso de restringido sustentar motivo | | | |

A. Originalidad del Archivo Digital

Por el presente dejo constancia que el archivo digital que entrego a la Universidad, es la versión final del trabajo de investigación sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador y forma parte del proceso que conduce a obtener el grado académico o título profesional.

B. Otorgamiento de una licencia CREATIVE COMMONS ⁶

El autor, por medio de este documento, autoriza a la Universidad, publicar su trabajo de investigación en formato digital en el Repositorio Institucional Digital, al cual se podrá acceder, preservar y difundir de forma libre y gratuita, de manera íntegra a todo el documento. ⁶

| | | | |
|----------|-----|-----|-----|
| Lugar | Día | Mes | Año |
| Chimbote | 23 | 07 | 24 |

Huella Digital



Thalia

Firma

Importante

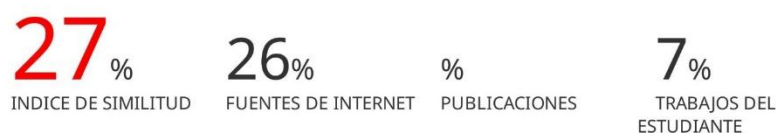
- Según Resolución de Consejo Directivo N°033-2010-SUNEDU-CO, Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar Grados Académicos y Títulos Profesionales, Art. 8, inciso 8.2.
- Ley N° 30335, Ley que regula el Repositorio Nacional Digital de Ciencia, Tecnología e Innovación de Acceso Abierto y D.S. 089-2010-PCM.
- Si el autor eligió el tipo de acceso abierto o público, otorga a la Universidad San Pedro una licencia no exclusiva, para que se pueda hacer arreglos de forma en la obra y difundir en el Repositorio Institucional Digital, respetando siempre los derechos de Autor y Propiedad Intelectual de acuerdo y en el Marco de la Ley 822.
- En caso de que el autor elija la segunda opción Únicamente se publicará los datos del autor y resumen de la obra, de acuerdo a la directiva N°004-2018-CD/CDYTEC-DEEC (Numerales 52 y 67) que norma el funcionamiento del Repositorio Nacional Digital.
- Las licencias Creative Commons (CC) es una organización internacional sin fines de lucro que pone a disposición de los autores un conjunto de licencias flexibles y de herramientas tecnológicas que facilitan la difusión de información, recursos educativos, obras artísticas y científicas, entre otras. Estas licencias también garantizan que el autor obtenga el crédito por su obra.
- Según el inciso 12.2 del artículo 12° del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos de Investigación para optar grados académicos y títulos profesionales-RENATI. Las universidades, instituciones y escuelas de educación superior tienen como obligación registrar todos los trabajos de investigación y proyectos, incluyendo los ministerios en sus repositorios institucionales procesando si son de acceso abierto o restringido, los cuales serán posteriormente recolectados por el Repositorio Digital RENATI, a través del Repositorio AUCIA.

Note - En caso de falsedad en los datos, se procederá de acuerdo a Ley (Ley 27444, art. 32, n.ºm. 32.3)

Anexo 5

Efecto antibacteriano del extracto etanólico de los bulbos de *Allium sativum* (ajo) sobre el desarrollo de *Staphylococcus aureus*.

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

| | | |
|----------|---|------------|
| 1 | repositorio.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet | 16% |
| 2 | www.scielo.org.mx Fuente de Internet | 2% |
| 3 | polibotanica.mx Fuente de Internet | 1% |
| 4 | hdl.handle.net Fuente de Internet | 1% |
| 5 | docs.bvsalud.org Fuente de Internet | 1% |
| 6 | Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante | 1% |
| 7 | repositorio.uladech.edu.pe Fuente de Internet | 1% |
| 8 | www.researchgate.net Fuente de Internet | 1% |

| | | |
|----|---|------|
| 9 | repositorio.espam.edu.ec Fuente de Internet | <1 % |
| 10 | Submitted to aesanlucas Trabajo del estudiante | <1 % |
| 11 | 1library.co Fuente de Internet | <1 % |
| 12 | issuu.com Fuente de Internet | <1 % |
| 13 | pesquisa.bvsalud.org Fuente de Internet | <1 % |
| 14 | repositorio.unid.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 15 | Submitted to Berkeley High School Trabajo del estudiante | <1 % |
| 16 | www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet | <1 % |
| 17 | publicaciones.usanpedro.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 18 | tesis.ucsm.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 19 | doaj.org Fuente de Internet | <1 % |
| 20 | intra.uigv.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |

| | | |
|----|--|------|
| 21 | repositorio.untrm.edu.pe Fuente de Internet | <1 % |
| 22 | ruidera.uclm.es Fuente de Internet | <1 % |
| 23 | theibfr.com Fuente de Internet | <1 % |
| 24 | www.cienciadigital.org Fuente de Internet | <1 % |
| 25 | www.enb.ipn.mx Fuente de Internet | <1 % |

Excluir citas Apagado Excluir coincidencias < 6 words
 Excluir bibliografía Activo