



**UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO**

**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**

**ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE NUTRICIÓN**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DEL ZUMO DE *MYRCIARIA DUBIA*,  
*CITRUS GRANDIS* Y *CITRUS RETICULA* SOBRE *ESCHERICHIA  
COLI* Y *SALMONELLA TYPHY***

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADA  
EN NUTRICIÓN**

**AUTORA:**

**ANDREA ELIZABETH LÓPEZ MATA**

**ASESOR:**

**Dr. JORGE LUIS DÍAZ ORTEGA**

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**

**ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN**

**TRUJILLO – PERÚ**

**2016**

## DEDICATORIA

A:

Dios, por acompañarme en cada paso de mi vida, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente.

Mi amados padres: Luis y Rosa por su ejemplo de perseverancia para seguir adelante y por creer en mí.

Mi querida abuelita Soquito, que desde el cielo me inspira a lograr con fe mis metas cada día.

Mis hermanos queridos: Luis Fernando Katherine Carolina y Andrés David, a Juan Arturo por su amor y apoyo incondicional y para que vean en mí un ejemplo.

*Andrea E. López Mata*

## **AGRADECIMIENTO**

De manera especial y sincera a mis profesores Jorge Díaz Ortega y Jaime Polo Gamboa porque con su aporte invaluable han sido una guía para orientar mis ideas, no solamente en el desarrollo de esta tesis, sino también en mi formación como investigadora.

AUTORA

## DEDICATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo, Andrea Elizabeth López Mata estudiante de la Escuela Profesional de Nutrición, de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Cesar Vallejo, identificada con DNI 70777769.

Declaro bajo juramento que:

Soy autor de la tesis titulada: “Efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiph*”, la misma que presento para obtener el Título Profesional de Licenciada en nutrición. No ha sido plagiada ni total ni parcialmente, para la cual se han respetado las normas internacionales de citas y referencias para las fuentes consultadas, no atenta contra derechos de terceros. No ha sido publicada ni presentada anteriormente para obtener algún grado académico previo o título profesional. Los datos presentados en los resultados son reales, no han sido falsificados, ni duplicados, ni copiados.

Por lo expuesto, mediante la presente asumo frente LA UNIVERSIDAD cualquier responsabilidad que pudiera derivarse por la autoría, originalidad y veracidad del contenido de la tesis, así como por los derechos sobre la obra y/o invención presentada. En consecuencia, me hago responsable frente a LA UNIVERSIDAD y frente a terceros, de cualquier daño que pudiera ocasionar a LA UNIVERSIDAD o a terceros, por el incumplimiento de lo declarado o que pudiera encontrar causa en la tesis presentada, asumiendo todas las cargas pecuniarias que pudieran derivarse de ello para LA UNIVERSIDAD en favor de terceros con motivo de acciones, reclamaciones o conflictos derivados del incumplimiento de lo declarado o las que encontraren causa en el contenido de la tesis.

De identificarse fraude, piratería, plagio, falsificación o que el trabajo de investigación haya sido publicado anteriormente; asumo las consecuencias y sanciones que de mi acción se deriven, sometiéndome a la normatividad vigente de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, 27 de Noviembre 2016

Andrea E. López Mata

DNI 70777769

## PRESENTACIÓN

### SEÑORES MIEMBROS DEL JURADO EVALUADOR

Cumpliendo con las disposiciones vigentes en el reglamento de grados y títulos de la Universidad Cesar Vallejo. Someto a la consideración de vuestro criterio el desarrollo del examen de suficiencia profesional, cuyo tema es “Efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*”, con el propósito de obtener el título de licenciada en nutrición.

El presente diseño instruccional ha sido realizado sobre las bases de consultas bibliográficas y otras fuentes, además de la aplicación de conocimientos y experiencias adquiridas durante los años de estudios y ejercicio de mi carrera profesional.

LA AUTORA

## INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTO .....	iii
DEDICATORIA DE AUTENTICIDAD .....	iv
PRESENTACIÓN .....	v
INDICE .....	vi
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT .....	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Realidad problemática .....	1
1.2. Trabajos previos.....	2
1.3. Teorías relacionadas al tema .....	4
1.4. Formulación al problema .....	7
1.5. Justificación del estudio .....	7
1.6. Hipótesis.....	8
1.7. Objetivos.....	8
1.7.1. General:.....	8
1.7.2. Específicos: .....	8
<b>II. MÉTODO.....</b>	<b>10</b>
2.1. Diseño de investigación .....	10
2.2. Variables, operacionalización.....	10
2.3. Población y muestra.....	11
2.3.1. Población: .....	11
2.3.2. Muestra: .....	11
2.3.3. Muestreo:.....	11
2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	12
2.4.1. Técnicas: .....	12
2.4.3. Determinación del efecto antibacteriano .....	12
2.4.4. Validación y confiabilidad del instrumento.....	13
2.5. Métodos de análisis de datos .....	13
2.6. Aspectos éticos .....	13
<b>III. RESULTADOS .....</b>	<b>14</b>
<b>IV. DISCUSIÓN.....</b>	<b>17</b>
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>20</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>21</b>

<b>VII. REFERENCIAS</b> .....	22
<b>VIII. ANEXOS</b> .....	27

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación es de tipo de estudio experimental, post prueba únicamente, tres grupos experimentales, control positivo y control negativo con diseño, se realizó con el propósito de ver el efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*, sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

La muestra estuvo constituida por frutas como *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*, procedentes del mercado La Hermelinda de distrito de Florencia de Mora. Para la recolección de datos se utilizó como instrumento una matriz de recolección de datos. Para el análisis estadístico se empleó el programa estadístico SPSS 22.0 Windows. Las diferencias entre las medias de los halos de inhibición del crecimiento bacteriano por acción de los zumos se analizaron mediante la prueba de ANOVA.

Se determinó que con el zumo de *Myrciaria dubia* frente a *Escherichia Coli*, se presentaron halos de inhibición de  $16.90 \pm 3.45$  mm, contra *Salmonella Tiphy*  $11.19 \pm 1.37$  mm. En el caso del zumo de *Citrus grandis*, los halos de inhibición del crecimiento para *Escherichia Coli* fue  $14.52 \pm 1.80$  mm, y para *Salmonella Typhi*  $17.10 \pm 2.47$  mm. También se determinó que *Citrus reticulata* no produjo halo de inhibición en el crecimiento de *Escherichia Coli* y frente a *Salmonella Typhi*, el halo de inhibición fue  $7.57 \pm 4.41$  mm. Se concluye finalmente que el zumo de *Myrciaria dubia* y *Citrus grandis* poseen efecto inhibitorio del crecimiento de *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*, en tanto que *Citrus reticulata* no presento actividad antibacteriana importante frente a dichos microorganismos.

Palabras clave: *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis*, *Citrus reticulata*, *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*



## ABSTRACT

The present study was carried out with the purpose of seeing the antibacterial effect of *Myrciaria dubia* juice, *Citrus grandis* and *Citrus reticulata*, On *Escherichia Coli* and *Salmonella Tiphy*.

The sample consisted of fruits such as *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* and *Citrus reticulata*, from the La Hermelinda market district of Florencia de Mora. A data collection matrix was used as instrument for the data collection. Statistical analysis was performed using the statistical software SPSS 22.0 Windows. Differences between the means of bacterial growth inhibition halos by juice action were analyzed using the ANOVA test.

It was determined that with the juice of *Myrciaria dubia* against *Escherichia Coli*, inhibition halos of  $16.90 \pm 3.45$  mm were presented against *Salmonella Tiphy*  $11.19 \pm 1.37$  mm. In the case of *Citrus grandis* juice, the growth inhibition halos for *Escherichia Coli* were  $14.52 \pm 1.80$  mm, and for *Salmonella Typhi*  $17.10 \pm 2.47$  mm. It was also determined that *Citrus reticulata* did not produce halo inhibition in the growth of *Escherichia coli* and *Salmonella Typhi*, the inhibition halo was  $7.57 \pm 4.41$  mm. Finally, the juice of *Myrciaria dubia* and *Citrus grandis* has an inhibitory effect on the growth of *Escherichia Coli* and *Salmonella Tiphy*, while *Citrus reticulata* does not present significant antibacterial activity against these microorganisms.

Key words: *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis*, *Citrus reticulata*, *Escherichia coli* and *Salmonella Tiphy*.

# I. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Realidad problemática

Datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), reflejan la incidencia de enfermedades que han sido originadas por comidas inocuas o no aptas para el consumo humano, podrían ser entre 300 y 350 veces mayor al que los informes han indicado hasta ahora. Esto aparece vinculado con los problemas de salubridad más concurridos que amenazan a los pobladores.

Se considera hoy, que las más grandes exposiciones a agentes patógenos son las comidas, ya que son una fuente significativa de riesgos, que afectan a distintos países. Los patógenos primordiales que han causado cada año muchas pérdidas económicas son la *Escherichia coli*, *Salmonella*<sup>1</sup>.

Al examinar el proceder de la morbilidad en el país, las enfermedades tanto infecciosas como parasitarias representan una de las principales razones de atención médica. En el año 2006, las enfermedades de transmisión alimentaria (ETA) fueron responsables del 45.3%, en contraste con los casos de infecciones y parásitos que representan el 14.6% del total. Se ha encontrado que el 70% de las diarreas están dadas por el consumo de alimentos contaminados con microorganismos, esto representa a 1500 millones en el mundo de incidentes por año. Para el caso del Perú donde solo el 38% de los hogares poseen acceso a agua, existen un promedio de 250 agentes causantes de ETAs; consecuentemente, entre los años 2010 al 2012 se reportaron 35 casos de estas enfermedades en un año, representando los 47% del total, todas relacionadas con casos de *Salmonella Tiphy*<sup>2</sup>.

Se hicieron estudios en Lima donde hubo continuidad de incidencias de disentería en infantes menores de dos años. Sin embargo, hay reportes que demuestran que en nuestro país existen brotes comunitarios e intrahospitalarios debido a estas bacterias. Además en el año 2001 en Cajamarca, Lambayeque, Loreto y Lima se registraron frecuencias de

*Salmonella* del 13,2%, incluyendo 15,3% y 8,7%, de diarrea, en niños menores de 5 años<sup>3</sup>.

En Lima se realizó, un estudio en el año 2015 en diferentes mercados de Lima Metropolitana, encontrándose una evidencia de la bacteria *Escherichia Coli* en 12,3% de 407 muestras de alimentos (23 en 102 muestras de carnes molida, 15 en carne entera, 8 en 102 muestras de queso fresco, y 2 en 101 verduras frescas)<sup>4</sup>.

## 1.2. Trabajos previos

Fujita et al<sup>5</sup>, desarrollaron un trabajo que aborda el impacto de secado de compuestos bioactivos, antioxidantes y actividad antimicrobiana, que tiene la pulpa de cítricos *Myrciaria dubia* fresca y liofilizada como referencias. La pulpa comercial del cítricos *Myrciaria dubia* se dejaba al secado en lecho a temperaturas seleccionadas con diferentes concentraciones de maltodextrina (agente portador). Los polvos de frutas fueron comparados en relación con el color, la capacidad antioxidante *in vitro* en, fenoles totales, ácido ascórbico y el contenido de proantocianidina. El secado de lecho fluidizado de la pulpa llevó a pérdidas significativas, en el ácido ascórbico (45-64%), fenoles totales (33-42%), proantocianidinas (16-18%), y los productos liofilizados preservaron la capacidad antioxidante (74 a 87%) en comparación con el secado en lecho en surtidor (29 a 78%). El polvo secado por liofilización se clasificó como activo, y el polvo del secado en lecho como parcialmente activo, frente a *Salmonella aureus*. A pesar de las pérdidas causadas por el secado de polvos del *Myrciaria dubia*, aún representa una excelente fuente de compuestos bioactivos con un gran potencial para su uso como nuevos ingredientes bioactivos.

Se hizo un cultivo en agar tripticasa de soya, para hallar el efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* sobre *Escherichia Coli*, para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Mediante el extracto hidroalcolico a diferentes condensaciones de 800 mg/ml, 700

mg/ml y 600 mg/ml, de hojas y corteza de *Myrciaria dubia* se evidencio una actividad antimicrobiana anverso a *Staphylococcus*. Dicho extracto como una suspensión de 10 UFC/ml de *Staphylococcus Aureus* es igual a 6,38 mg/ml<sup>6</sup>.

Galavis<sup>7</sup>, ha investigado las propiedades antibacterianas de la toronja enfocándose en extractos de las semillas, de los cuales se ha demostrado que inhiben el crecimiento debido a sus efectos bactericidas en numerosas bacterias de Gram positivo y Gram negativo y en múltiples cepas de *Legionella pneumophila*. Resulta interesante que las semillas de toronja hayan sido probadas en un estudio clínico básico, proporcionándose vía oral por 2 semanas a pacientes con unidad de tratamiento intenso (UTI) causadas por diferentes cepas de bacterias (*P. aeruginosa*, *Klebsiella sp.*, *Salmonella Aureus* y *Escherichia Coli*) resistentes a los antibióticos.

Los resultados mostraron que las semillas deshidratadas o frescas tenían eficacia comparable a la metilina (MSSA) medicamento bacteriano probado y que había una respuesta satisfactoria en todos los pacientes, excepto en aquellos cuya UTI fue causada por *P. aeruginosa*. El crecimiento bacteriano se redujo con el tiempo y se observó una reversión del patrón de resistencia a los antibióticos. Además de los extractos de semilla, los aceites volátiles de toronja también han mostrado actividad antibacteriana, inhibiendo el crecimiento de 10 especies de bacterias,

Picón et al<sup>8</sup>, se planteó realizar para el interés de la industria alimentaria el análisis de tres subproductos de la mandarina, naranja y limón. Ya que para esta misma industria existen dos microorganismos de alta influencia en el mercado: *Salmonela Tiphy* y *Escherichia Coli*, a manera de cita, bajo diferentes condiciones del proceso: temperatura [5-22] °C y concentración de subproducto [0.5-10] (p/v). Como resultado sobresaliente el subproducto de la mandarina se muestra como el más eficaz combatiente de los microorganismos mencionados, además que los otros productos cítricos también contienen un efecto bacteriostático. Se concluye que los subproductos cítricos muestran capacidad antimicrobiana efectiva,

actuando como barrera a la proliferación microbiana, particularmente *S. aureus*, *S. faecalis*, *Escherichia Coli* y *Mycobacterium smegmatis*.

Por tanto, la toronja tiene el potencial para convertirse en una buena fuente de varios componentes antibacterianos y una posible alternativa de tratamiento natural.

### 1.3. Teorías relacionadas al tema

Para Encina<sup>9</sup>, las frutas forman un grupo de alimentos de suma importancia para la salud y bienestar, especialmente por su aporte de fibra, vitaminas y minerales y sustancias de acción antioxidante (vitamina C, Vitamina E, beta-caroteno, licopeno, luteína, flavonoides, antocianinas, etc.).

La *Myrciaria dubia*, conocida comúnmente como Camu camu es un frutal oriundo de la Amazonia peruana, muy valorado por el mercado internacional esencialmente por Japón. El nombre común más generalizado es Camu camu en muchos países, aunque se conoce también con el nombre de Camo camo en Perú, caçari o arazá de agua en Brasil. Su importancia radica en su aumentado contenido de ácido ascórbico (2,700 mg/100 gr. pulpa) y buen sabor, superando en igual cantidad de pulpa en 40 y 100 veces al limón y naranja; antioxidante que previene el cáncer, enfermedades cardiovasculares, entre otros. Debido a la elevada concentración de ácido ascórbico la "*Myrciaria dubia*" es ubicada como frutal nativo de primer orden para la agroindustria. Sin embargo, hay una alta variabilidad genética que genera una enorme y heterogénea calidad en cuanto al contenido de ácido ascórbico<sup>10</sup>.

Vásquez<sup>11</sup> explica que según estudios recientes se ha determinado que la cáscara del fruto maduro de *Myrciaria dubia* tiene una gran concentración del pigmento antocianina.

*Citrus grandis* (pomelo) también conocido como toronja o pamplemusa, es un fruto que presenta color amarillo pálido, sabor levemente ácido con un pequeño toque de amargor y gran tamaño, muy abundantes en vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Los frutos, llamados espérides, tienen la

característica de que su pulpa está formada por numerosas vesículas llenas de jugo<sup>12</sup>.

*Citrus grandis*, posee un reducido valor calórico, a expensas básicamente de los hidratos de carbono. La gran cantidad de vitamina C y ácido fólico predominan dentro de las vitaminas que posee. Solo para las variedades de pulpa de color oscuro, con independencia del color de la piel, la presencia de carotenoides, pigmentos que dan a los vegetales el color anaranjado-rojizo es indispensable. En el pomelo abundan los ácidos málico, oxálico, tartárico y cítrico, éste último potencia la acción de la vitamina C; responsables de su sabor y de los que dependen diversas propiedades que se le atribuyen al pomelo. Por otro lado, la vitamina C y los beta-carotenos presentes en cantidades elevadas en el zumo de pomelo, actúan también como potentes antioxidantes<sup>13</sup>.

*Citrus reticulata* llamada comúnmente como mandarina es el fruto que proviene del mandarino, árbol que se ubica en la familia de las *Rutáceas*, con descripciones similares al árbol del naranjo, pero de menor tamaño y más sensible. La mandarina es estimada como el cítrico próximo a la naranja. Características que hacen a esta fruta una de las más demandadas son: su pequeño tamaño, aromático sabor y la facilidad de quitar su cascara<sup>14</sup>. En el Perú crecen adecuadamente diversas variedades, con o sin pepas, la pectina de su cascara es utilizada por la industria alimentaria y la farmacéutica. Tiene de 60 a 70 mg de vita C, variando con la especie botánica<sup>15</sup>.

Es necesario reconocer el efecto antimicrobiano de las frutas y utilizarlo de una manera alterna a los fármacos para las diferentes enfermedades provocadas por bacterias. Eso quiere decir que en un futuro, la medicina natural se ve como solución alterno y ayuda en la salud de las personas. Estos casos ya son muy comunes en la actualidad y existen diferentes formas de tratamientos mediante el uso de la medicina natural o métodos no convencionales, donde lo natural ha sido lo prioritario.

En la mayoría de los casos los polifenoles son compuestos que se hayan en gran proporción dentro de las cascara y pieles de frutas de los

vegetales que presentan colores vivos en esas partes de las plantas. Es muy probable que se ubique a las antocianinas, las flavonas y el resveratrol entre los más conocidos o comunes. Así podemos describir que: las antocianinas son causantes del color rojo, azul y violáceo de los frutos rojos; las flavonas son causantes de dotar de color amarillo a todas las frutas, el resveratrol se encuentra mayoritariamente en la piel y en las pepitas; los carotenoides lucen colores entre el naranja, rojo y verde; dentro de esta familia de antioxidantes. Gracias a la abundante agua que contiene el zumo de naranja se disuelven con facilidad los antioxidantes.

Sin embargo, los liposolubles como las vitaminas A, E y los carotenoides se pierden cuando no se acompañan de un aceite. Por los recientes estudios podemos comprobar que los efectos perjudiciales de los radicales libres en las células se pueden anular con los antioxidantes al ingerir alimentos como frutas y verduras ricos en polifenoles (antocianinas, flavonas) y carotenoides, previniendo el cáncer y otras enfermedades<sup>16</sup>.

De otra forma, pertenecen al grupo de los protistas inferiores, las bacterias, quienes son mayoritariamente unicelulares. Son células de tamaño variable cuyo límite inferior está en las 0,2  $\mu\text{mol/g}$  y el superior en las 50  $\mu\text{mol/g}$ ; sus dimensiones medias oscilan entre 0,5 y 1  $\mu\text{mol/g}$ . En comparación con otros organismos superiores las bacterias tienen una estructura menos compleja: son células procariotas (su núcleo está formado por un único cromosoma y carecen de membrana nuclear). Igualmente son muy diferentes a los virus, que no pueden desarrollarse más dentro de las células y que sólo contienen un ácido nucleico. Para la naturaleza y, en especial, para el hombre cumplen roles importantes: la presencia de una flora bacteriana normal es indispensable, aunque algunos gérmenes son patógenos. Opositoramente dan paso a desarrollar importantes progresos en la investigación y tienen un rol importante en la industria<sup>17</sup>.

La *Escherichia Coli* se describió por primera vez en 1885 por el pediatra alemán Theodore Escherich y fue nombrada inicialmente como "*Bacterium coli commune*", pero en 1919 fue renombrada con el nombre actual en honor a su descubridor (Kaper, 2005). Los representantes de esta especie

son bacilos gram-negativos, oxidasa negativos, con un tamaño promedio de 1,1-1,5  $\mu\text{m}$  de ancho y 2,0-6,0  $\mu\text{m}$  de largo. De acuerdo a sus requerimientos de oxígeno son anaerobios facultativos y pueden ser móviles por la presencia de flagelos peritricos o no móviles (Scheutz y Strockbine, 2005). Las enterobacterias poseen una serie de factores de virulencia implicados en la producción de los diferentes síndromes clínicos, por una parte Introducción 8 poseen fimbrias y adhesinas imprescindibles para adherirse a las mucosas, siendo este el primer paso para la colonización bacteriana, por otra parte producen toxinas como la endotoxina o lipopolisacárido de la pared y otras: hemolisina, citotoxinas y por ultimo poseen plásmidos que son unidades de ADN extracromosómicos, intracitoplasmáticos, con capacidad de autorreplicación y que juegan un papel fundamental en la codificación de información para su acción patógena (islas de patogenicidad) así como para la resistencia a los antibióticos<sup>19</sup>.

En humanos la *Salmonella Tiphy*, causa la fiebre tifoidea la cual trae consigo diarreas, dolores abdominales, vómitos y náuseas, y suele durar unos siete días. La *Salmonella Tiphy*, en el ámbito mundial, está asociada con mucha frecuencia a las enfermedades diarreicas, las cuales continúan siendo una de las causas más importantes de morbilidad y mortalidad sobre todo en lactantes, niños y ancianos<sup>20</sup>.

#### **1.4. Formulación al problema**

¿Cuál es el efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*?

#### **1.5. Justificación del estudio**

Debido a que estudios demostraron que hay una gran cantidad de personas que padecen de enfermedades contraídas por manipulación inadecuada de alimentos contaminados por bacterias como *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*, es menester encontrar una solución preventiva



para reducir los índices de enfermedades provocados por estos gérmenes<sup>21</sup>.

Por este motivo se plantea el uso alternativo de alimentos que contengan antibacterianos naturales, considerándose como opciones algunas frutas, específicamente la *Myrciaria dubia*, el *Citrus grandis* y el *Citrus reticulata*, como fuentes de compuestos bioactivos que disminuyen la carga antimicrobiana de las bacterias relacionadas con ETAs como es el caso de *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

Razón por la cual se orienta el presente trabajo a la demostración de la actividad antibacteriana de las frutas citadas, y que permita de esta manera ser muy considerado en las preparaciones culinarias para disminuir la carga de patógenos en alimentos y así mismo en el futuro ser recomendados por los profesionales de salud en el tratamiento preventivo de infecciones<sup>22</sup>.

## **1.6. Hipótesis**

H<sub>1</sub>: El zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* tienen efecto antibacteriano sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

H<sub>0</sub>: El zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* no tienen efecto antibacteriano sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

## **1.7. Objetivos**

### **1.7.1. General:**

- Determinar el efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*, frente a *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

### **1.7.2. Específicos:**

- Determinar si *Myrciaria dubia* presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

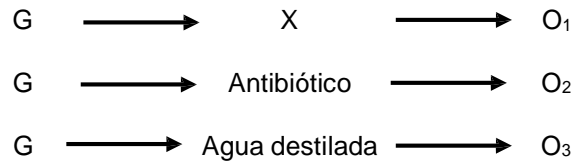
- Determinar si *Citrus grandis* presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.
- Determinar si *Citrus reticulata* presenta efecto antibacteriano sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.
- Comparar el efecto antibacteriano entre los zumos de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*, frente a *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

## II. MÉTODO

### 2.1. Diseño de investigación

Estudio experimental, post prueba únicamente, tres grupos experimentales, control positivo y control negativo

*Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*



Dónde:

**G:** Cultivo de Microorganismo (*Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*)

**X:** Concentración de zumo (*Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*)

**Antibiótico:** Gentamicina como control positivo de referencia.

**Agua destilada:** Como control negativo

**O:** Diámetro del halo de inhibición (mm)

### 2.2. Variables, operacionalización

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<i>Myrciaria dubia</i>	Es un fruto de color rojo y sabor ligeramente ácido, posee gran cantidad de antocianinas y otros compuestos fenólicos de gran valor antioxidante y regenerador celular <sup>23</sup> .	Se utilizó el zumo puro de <i>Myrciaria dubia</i>	Zumo al 100%	Cualitativa nominal.
<i>Citrus grandis</i>	Fruto del toronjo, comestible, parecida a la naranja pero achatado, de color amarillo y sabor muy ácido <sup>24</sup> .	Se utilizó zumo puro de <i>Citrus grandis</i>	Zumo al 100%	Cualitativa nominal.

<i>Citrus reticulata</i>	La mandarina es un fruto similar a la naranja, más pequeña y un poco achatada por su base, es una fuente de vitamina C, aunque en menor proporción que la naranja, es rica en fibra y posee un elevado contenido en agua <sup>25</sup> .	Se utilizó zumo puro de <i>Citrus reticulata</i>	Zumo al 100%	Cualitativa nominal.
Inhibición del crecimiento bacteriano	Evita el incremento de un microorganismo, valor llamado Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), de manera que cuanto más pequeño sea este valor, mayor potencia antimicrobiana tiene el compuesto <sup>26</sup> .	Para la determinación de la inhibición del crecimiento bacteriano se considerará la medición del diámetro de halos de inhibición para <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella tiphy</i> .	Según CLSI, susceptibilidad de enterobacterias a Gentamicina: Resistente: ≤ 12 mm Intermedio: 13 – 14 mm Sensible: ≥ 15 mm	Escala de inhibición cuantitativa continua y de razón.

## 2.3. Población y muestra

### 2.3.1. Población:

- Fruta *Myrciaria dubia* expendidas del mercado La Hermelinda de distrito de Florencia de Mora.
- Fruta *Citrus grandis* expendidas del mercado La Hermelinda de distrito de Florencia de Mora.
- Fruta *Citrus reticulata* expendidas del mercado La Hermelinda de distrito de Florencia de Mora.

### 2.3.2. Muestra:

- Se trabajó con veintiún frutas de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* procedentes del mercado La Hermelinda de distrito de Florencia de Mora.

### 2.3.3. Muestreo:

- Muestreo no probabilístico.

## **2.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad**

### **2.4.1. Técnicas:**

En la investigación se ha utilizado la técnica de la observación experimental.

### **2.4.2. Instrumentos**

Se utilizó una ficha de recolección de datos que consiste en datos generales de la muestra, número de repetición y datos correspondiente a la inhibición del crecimiento bacteriano como es el diámetro del halo y la sensibilidad del microorganismo utilizado frente a los zumos de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* y al control negativo (agua destilada) y control positivo (antibiótico de gentamicina) **Ver anexo 6**. Para la medición de los halos de inhibición se utilizó un Vernier de marca Inox temp 20°C.

### **2.4.3. Determinación del efecto antibacteriano:**

#### **Procedimiento:**

#### **A) Preparación del inóculo**

En un tubo de ensayo de 13 x 100 mm estéril, se colocó 2 ml de suero fisiológico (NaCl 0.9%) y se le adicionó colonias de *Escherichia Coli* de un cultivo de 24 horas (como máximo), de tal modo que llegó a una turbidez correspondiente al tubo 0.5 del nefelómetro de McFarland, de la misma forma se procedió para preparar el inóculo de *Salmonella Tiph*.

#### **B) Prueba de sensibilidad**

La siembra de las bacterias se realizó mediante la técnica de siembra por incorporación, tomando 0.1 ml de inóculo estabilizado, que se adicionó en una placa Petri que se encontraba previamente esterilizada, luego se agregó agar Mueller-Hinton, mezclando uniformemente el medio de cultivo con dos movimientos giratorios. Una vez sembrada la placa, se hizo perforaciones de 5 milímetros para formar hoyuelos en la placa de agar. Se

incorporó a cada hoyuelo 40  $\mu$  de cada zumo. La placa preparada con el inóculo y el zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* se llevó a incubar durante 24 horas a 37°C.

### **C) Lectura de resultados**

Después del tiempo de incubación, se midió los diámetros de los halos de inhibición del crecimiento que aparecen alrededor de los hoyuelos con la ayuda de un Vernier. Se valoró inhibición del crecimiento bacteriano por la acción del zumo con los halos de inhibición y comparándolos con el estándar de eficacia para ensayo de susceptibilidad antimicrobiana con gentamicina (Performance Standars for Antimicrobial Susceptibility testing) M100 S25 del CLSI (Clínica y laboratorio Standards Institute).

Para cada zumo se hizo veintiuna repeticiones de evaluación de actividad antimicrobiana frente a *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*, incluyendo el control positivo correspondiente al antibiótico gentamicina y el control negativo agua en las placas Petri.

#### **2.4.4. Validación y confiabilidad del instrumento**

La ficha de recolección de datos fue validada por profesionales especialistas en microbiología.

#### **2.5. Métodos de análisis de datos**

Se realizó la prueba estadística de ANOVA para las comparaciones de los halos de inhibición del crecimiento de *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy* ante los diferentes zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* y así mismo su eficacia comparativa con gentamicina entre los zumos de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*.

#### **2.6. Aspectos éticos**

Se consideró los aspectos de bioseguridad en el ambiente de trabajo para la confiabilidad de los resultados.

### III. RESULTADOS

**Tabla 1. Efecto antibacteriano del zumo de *Myrciaria dubia* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy***

Microorganismo	Diámetro del halo de inhibición de Zumo <i>Myrciaria dubia</i> (mm)	Diámetro de halos de inhibición de los controles (mm)		*Potencia en relación a la Gentamicina
		Agua destilada	Gentamicina	
<i>Escherichia Coli</i>	16.90 ± 3.45	0	29 mm	0.57 ± 0.15
<i>Salmonella Tiphy</i>	11.19 ± 1.37	0	30 mm	0.36 ± 0.04

Fuente Ficha de recolección de datos

**Tabla 2. Efecto antibacteriano del zumo de *Citrus grandis* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy***

Microorganismo	Diámetro del halo de inhibición de Zumo <i>Citrus grandis</i> (mm)	Diámetro de halos de inhibición de los controles (mm)		*Potencia en relación a la Gentamicina
		Agua destilada	Gentamicina	
<i>Escherichia Coli</i>	14.52 ± 1.80	0	29 mm	0.50 ± 0.06
<i>Salmonella Tiphy</i>	17.10 ± 2.47	0	30 mm	0.54 ± 0.14

Fuente Ficha de recolección de datos

**Tabla 3. Efecto antibacteriano del zumo de *Citrus reticulata* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy***

Microorganismo	Diámetro del halo de inhibición de Zumo <i>Citrus reticulata</i> (mm)	Diámetro de halos de inhibición de los controles (mm)		*Potencia en relación a la Gentamicina
		Agua destilada	Gentamicina	
<i>Escherichia Coli</i>	0 ± 0	0	29 mm	0.00 ± 0.00
<i>Salmonella Tiphy</i>	7.57 ± 4.41	0	30 mm	0.25 ± 0.07

Fuente Ficha de recolección de datos

**Tabla 4. Efecto antibacteriano comparativo del zumo de *Myrciaria dubia* y *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* frente a *Escherichia Coli***

Zumo de frutas	N° de muestras	Promedio de halos de inhibición (mm)	Análisis ANOVA (Valor F)	Significancia (P)
<i>Myrciaria dubia</i>	21	16.90 ± 3.45		
<i>Citrus grandis</i>	21	14.92 ± 1.81	7.857	0.008**
<i>Citrus reticulata</i>	21	0		

\*\*p<0.01, con respecto al zumo de *Citrus reticulata* no hubo ningún efecto frente a *Escherichia Coli*.

Fuente Ficha de recolección de datos



**Tabla 5. Efecto antibacteriano comparativo del Zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* frente a *Salmonella Tiphy***

Zumo de frutas	N° de muestras	Promedio de halos de inhibición (mm)	Análisis ANOVA (Valor F)	Significancia (P)
<i>Myrciaria dubia</i>	21	11.19 ± 1.365		
<i>Citrus grandis</i>	21	17.10 ± 2.468	53.120	0.000**
<i>Citrus reticulata</i>	21	7.57 ± 4.411		

\*\*p<0.01

Fuente Ficha de recolección de datos

#### IV. DISCUSIÓN

Las plantas medicinales son usadas para combatir enfermedades infecciosas que constituyen el principal problema de salud de la población. En el Perú existen abundantes especies vegetales algunas de ellas como la *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* han sido muy poco estudiadas en el ámbito terapéutico sobre todo en su actividad antimicrobiana.

En el presente estudio utilizando técnicas in vitro se determinó y comparó la actividad antimicrobiana del zumo de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis*, *Citrus reticulata* y gentamicina registrando el promedio del diámetro de los halos de inhibición en placas Petri sembradas previamente con *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.

Se demostró que el zumo *Myrciaria dubia* presentó un mayor efecto frente a *Escherichia Coli*, obteniendo como resultado un diámetro de halo de inhibición de  $16.90 \pm 3.45$  mm y para *Salmonella Tiphy* un menor halo de inhibición de  $11.19 \pm 1.37$  mm, lo cual indica que *Salmonella Tiphy* es resistente y *Escherichia Coli* sensible a *Myrciaria dubia* (Tabla N°1). En un estudio realizado por Mori<sup>27</sup> para determinar el efecto antimicrobiano del extracto de la corteza y hojas de *Myrciaria dubia* sobre microorganismos patógenos encontró que *Escherichia Coli* fue resistente, esto se puede explicar porque el extracto de las cortezas y hojas se sometió a secado con pérdida parcial de sus propiedades. La acidez que tiene la *Myrciaria dubia* se debe al alto contenido en vitamina C (ácido ascórbico) que actúa en el organismo como antioxidante y antibacteriano. No existen estudios comparativos de *Myrciaria dubia* sobre su efecto antimicrobiano en *Salmonella Tiphy*.

En la Tabla N°2 se observa la evaluación del efecto antibacteriano del zumo de *Citrus grandis* sobre *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*. En esta parte del trabajo, el zumo de *Citrus grandis* presentó un mayor efecto antibacteriano contra la *Salmonella Tiphy* observándose un diámetro de halo de inhibición correspondiente a  $17.10 \pm 2.47$  mm, mientras que para *Escherichia Coli* hubo un diámetro promedio de halo de inhibición de 14.52

$\pm 1.80$  mm, siendo ambas muestras sensibles, análogamente en una investigación desarrollada por Galvis<sup>8</sup> acerca de las propiedades antibacterianas en la semillas de la toronja proporcionándose por vía oral durante dos semanas a pacientes contaminados con bacterias especialmente con *Escherichia Coli*, dándose así una respuesta satisfactoria en los pacientes que siguieron el tratamiento para inhibir el crecimiento bacteriano.

Así mismo en la Tabla N°3 también se muestra que el Zumo de *Citrus reticulata* presentó efecto antibacteriano débil frente a *Salmonella Tiphy* con diámetro promedio del halo de inhibición  $7.57 \pm 4.41$  mm (considerado a la bacteria como resistente); también se encontró a *Escherichia Coli* resistente (halo de inhibición 0). Estos resultados son diferentes a lo encontrado por Picón<sup>9</sup>, quién determino que *Citrus reticulata* tuvo un efecto antimicrobiano eficaz frente a estas dos bacterias.

En la tabla N° 4 al comparar los halos de inhibición del crecimiento bacteriano para *Escherichia Coli* se halla diferencias significativas entre los zumos de *Myrciaria dubia* y *Citrus grandis* frente a *Citrus reticulata* ( $p < 0.01$ ).

Para el caso de *Salmonella Tiphy* se observa en la tabla N° 5 que los halos de inhibición muestran diferencias significativas para *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* ( $p < 0.01$ ), sin embargo quien tuvo un mejor efecto antimicrobiano frente a dicha bacteria fue *Citrus grandis*

Las frutas han sido empleadas por miles de años en culturas en todo el mundo, como parte integral de los tratamientos medicinales. Aunque algunos usos han estado basados en la superstición, muchas frutas poseen realmente propiedades benéficas para la salud.

Encina<sup>10</sup> su componentes presentes de *Myrciaria dubia* son; los frutos de esta planta contienen una excepcional concentración de vitamina C, y buen sabor, hasta hace poco se sabía que posee al menos 16 veces más que la pulpa de *Citrus sinensis*, pero en una reciente exploración al Amazonas se descubrieron ejemplares que presentan entre 3000 a 6000 mg de ácido

ascórbico cada 100 g de pulpa, es decir, entre 57 y 114 veces más concentración que la naranja, Funk<sup>11</sup> la cascara contienen una gran concentración del pigmento de antocianina, siendo de un excepcional valor nutritivo y medicinal.

*Citrus grandis* presenta una buena fuente de carotenoides, los limonoides y los flavonoides, su exitosa actividad antimicrobiana parece estar en dichos principios activos del zumo, esto logra desorganizar la membrana citoplasmática de los microorganismos patógenos y les impiden desarrollar y proliferar. De esa forma se paraliza la actividad de los gérmenes, que finalmente, perecen. Es más, al inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos este producto natural favorece en el crecimiento de bacterias buenas.

*Citrus reticulata*, es el fruto de las diferentes especies de cítricos, su pulpa está formada por un considerable número de gajos llenos de zumo o jugo; el cual contiene mucha vitamina C, flavonoides y aceites esenciales. Así como una acidez ligeramente inferior.

Uno de los principales factores que afecta el crecimiento bacteriano es el pH, por lo que, a mayor grado de acidez mayor efecto antioxidante el cual inhibe proliferación bacteriana. El efecto antioxidante depende del contenido de ácidos libres o ácido ascórbico de estos zumos. Se hizo la medición del pH en el laboratorio de los zumos de las tres frutas obteniendo un promedio de 2.09 para *Myrciaria dubia*, 3.40 para *Citrus grandis* y 2,60 para *Citrus reticulata* (Ver anexo 3), lo cual indica que por su alto grado de acidez tienen mayor efecto antibacteriano. Sin embargo además de ello es importante la composición en donde los terpenoides y los flavonoides tienen actividad antimicrobiana.

## V. CONCLUSIONES

- Se determinó que el zumo *Myrciaria dubia* mostró efecto inhibitorio del crecimiento de *Escherichia Coli*, en comparación *Salmonella Tiphy* que fue resistente.
- *Citrus grandis* mostró efecto inhibitorio del crecimiento de las cepas de *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.
- Zumo *Citrus reticulata* no mostró efecto inhibitorio del crecimiento de las cepas de *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.
- El zumo de *Myrciaria dubia* tuvo un mayor efecto antibacteriano frente a *Escherichia Coli* en comparación con el zumo de *Citrus grandis* y *Citrus reticulata*, no presentando este último actividad antimicrobiana. Así mismo el zumo de *Citrus grandis* tuvo mayor efecto antibacteriano frente a *Salmonella Tiphy* en comparación con el zumo de *Myrciaria dubia* y *Citrus reticulata*.

## VI. RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar otros estudios con *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* para determinar el espectro de actividad de frente a otros microorganismos patógenos para el organismo humano.
- Se recomienda realizar estudios para valorar la efectividad y efectos secundarios como coadyuvantes en el tratamiento de patologías gastrointestinales producidos por *Escherichia Coli* y *Salmonella Tiphy*.
- Se recomienda aislar los principios activos de *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* causantes de la actividad antimicrobiana.
- Se recomienda hacer estudios sobre preparados con *Myrciaria dubia*, *Citrus grandis* y *Citrus reticulata* que puedan ser utilizados para la preparación de refrescos en las loncheras de los escolares.

## VII. REFERENCIAS

1. Hernández L. Problemas relativos a la calidad e inocuidad de los alimentos y su repercusión en el comercio. Editorial Group, FAO. 2010. Lima. Accesado el 21 enero del 2016. Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11\\_2\\_97/ali01297.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/ali/vol11_2_97/ali01297.htm)
2. Dirección General y vigilancia Epidemiológica. Boletín epidemiológico. Editorial Barrió abierto. Epidemiológica Especializada, 2008. Lima. Accesado 5 de febrero 2016. Disponible en: [http://www.bvs.gob.ve/boletin\\_epidemiologico/2008/Boletin\\_epidemiologico\\_semana\\_07\\_2008.pdf](http://www.bvs.gob.ve/boletin_epidemiologico/2008/Boletin_epidemiologico_semana_07_2008.pdf)
3. Perú, Ministerio de Salud, Proyecto Vigía. Estudio de etiología de la diarrea en las direcciones de salud Cajamarca, Lambayeque, Loreto y Lima Este, 2001. Informe técnico [Internet]. Lima: MINSA; Feb 2015. Disponible en: [http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp\\_resanti\\_documentos\\_tecnicos/Estudio\\_etiologico\\_diarrea\\_4\\_DISAS.pdf](http://www.ins.gob.pe/repositorioaps/0/4/jer/cnsp_resanti_documentos_tecnicos/Estudio_etiologico_diarrea_4_DISAS.pdf).
4. Mora A, León SL, Blanco M, Blanco JE, López C, Dahbi G, et al. Phage types, virulence genes and PFGE profiles of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157:H7 isolated from raw beef, soft cheese and vegetables in Lima (Peru). 2015. Accesado 27 de febrero 2016. Disponible en: <http://www.scielo.org/pdf/rpmesp/v32n1/a22v32n1.pdf>
5. Fujita J, Borges S. Impact of spouted bed drying on bioactive compounds, antimicrobial and antioxidant activities of commercial frozen pulp of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh). Elsevier Ltd. NOV 2013. Accesado 21 de enero 2016]. Disponible en: [www.elsevier.com/locate/foodres](http://www.elsevier.com/locate/foodres).

6. Mori T. Efecto antimicrobiano de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Cyperus luzulae* (piri piri) sobre microorganismos patógenos. Departamento Académico de Microbiología y Parasitología. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana (UNAP). Accesado 15 de marzo 2016. Disponible en: <file:///C:/Users/Grupo%20Aspertec/Downloads/97-405-1-PB.pdf>.
7. Galavis F. Nutrición personalizada. Propiedades antibacterianas de la fruta dietaria, Planeta Mexico, Mexico, 2011. Accesado 6 de marzo 2016. Link:[https://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2011/04/12/propiedades\\_antibacterianas\\_fruta/](https://nutricionpersonalizada.wordpress.com/2011/04/12/propiedades_antibacterianas_fruta/)
8. Picón R, Pina P. Capacidad antimicrobiana de subproductos cítricos de limón, naranja y mandarina frente a los patógenos alimentarios de la *Escherichia Coli* y *Salmonella Typhimurium*. IATA-CSIC Colombia. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. 2013.
9. Encina C. y Repo R. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Revista Soc. Química v.74 n.2. Lima; 2008. Accesado el 20 de marzo del 2016. Disponible en [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2008000200004&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2008000200004&script=sci_arttext).
10. Funk, V. A., P. E. Berry, S. Alexander, T. H. Hollowell & C. L. Kelloff. Checklist of the Plants of the Guiana Shield (Venezuela: Amazonas, Bolivar, Delta Amacuro; Guyana, Surinam, French Guiana). Contr. U.S. Natl. Herb. View in Biodiversity Heritage Library, 2007.
11. Vásquez A., Peters M. Estudios ecológicos de Camu Camu (*Myrciaria dubia*). Producción de frutos en poblaciones naturales. Acta Amaz. vol.17. Manaus; Amzonas 2001. Accesado el 18 de marzo del 2016. Disponible en: [http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S004459671987000100161&script=sci\\_arttext&tlng=es](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S004459671987000100161&script=sci_arttext&tlng=es).



12. Eroski Consumer, Vizcaya. Guía de frutas. Lima 2009. Actualizado el 22 de Febrero del 2016. Disponible en: <http://frutas.consumer.es/mandarina/>
13. Ministerio de Agricultura de Republica Dominicana. Toronja: variedades de pomelo; 2013. Accesado el 15 de marzo del 2016 Disponible en: <http://www.agricultura.gob.do/perfiles/frutas/toronja/>
14. Alvarado C. Alimentos. Horizibte interior. Universidad de Ciencias Aplicadas. Camu camu. Toronja y Mandarina. 2da Edición; Lima, abril 2008.
15. Monterrey P. Caballero A. Riesgos de la venta de alimentos en la calles. Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos. Accesado el 14 de marzo del 2016. Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revista/ali/vol11\\_2\\_97/ali1297.htm](http://www.bvs.sld.cu/revista/ali/vol11_2_97/ali1297.htm)
16. Kuskoski, Marta. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos; Cienc. Tecnol. Aliment., Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005
17. Barrio A. Probióticos, prebióticos y simbióticos. Definición, funciones y aplicación clínica en pediatría. Rev Pediatr Aten Primaria. Madrid; 2006. Accesado el 17 de marzo del 2016. Disponible en: <http://pap.es/files/1116-531-pdf>.
18. Rincón A. Transmisión de *Salmonella* su importancia en salud pública. Rev. Univ. Ind. Santander; 2011. Accesado el 6 de abril del 2016. Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0121-08072011000200008](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-08072011000200008).

19. Vázquez O. Y Soto J. Bacteremia primaria por salmonella no tiphy. Revista de Enfermedades Infecciosas en Pediatría del Instituto Nacional de Pediatría. México. 2014. Versión virtual. Accesado el 20 de marzo del 2016. Disponible en: <http://eds.b.ebscohost.com/eds/pdfviewer/pdfviewer?sid=da573521-e03e-4b75-8ac8-ec52dfcae23b%40sessionmgr120&vid=2&hid=126>.
20. María V. Antioxidantes en frutas y verduras, naturales y eficaces. El color es la manera más rápida y fácil de reconocer si un vegetal es rico en antioxidantes. Perú. 2001. Revista digital de gastronomía mediterránea Sabor mediterráneo. Accesado el 06 de marzo del 2016. Disponible en: <http://www.sabormediterraneo.com/salud/antioxidantes.html>
21. Gabi D. Salud diaria- Salud, vida sana y dietas. 2016. Propiedades y beneficios de la fruta Camu camu. Nubedeblog. Accesado 25 de mayo del 2016. Disponible en: <http://www.saluddiaria.com/4939/porpropiedades-beneficios-fruta-camu-camu/>
22. Prom Perú. Agropecuario. Noviembre 2009. Mandarina fresca y seca. Revista digital siicex. Accesado 25 de mayo del 2016. Disponible en: <http://www.siicex.gob.pe/siicex/resources/fichaproducto/611423054radE0D20.pdf>
23. Escobar M. Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México. México. 2010. Accesado el 8 de junio del 2016. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/9612/34.pdf?sequence=1>
24. Salgado A. Métodos de control de crecimiento microbiano. Temas selectos de Alimentos. México. 2012. Accesado el 08 de Junio del 2016. Disponible en: <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Salgado-Nava-et-al-2012.pdf>

25. Revista Argentina de microbiología. Procedimiento para determinar efecto antibacteriano. Argentina. 2010. Publicación de la asociación Argentina de microbiología. Accesado el 15 octubre 2016. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/101901876/revista-microbiologia>
  
26. Revista mensual de salud y medicina. Alimentación, las pepitas de pomelo destruyen bacterias virus y hongos patógenos. Perú. 2016. Publicación de Discovery salud. Accesado el 20 noviembre. Disponible en: <http://www.dsalud.com/reportaje/las-pepitas-de-pomelo-destruyen-bacterias-virus-y-hongos-patogenos/>

## VIII. ANEXOS

✓ Instrumentos

### ANEXO 1: Matriz de recolección de datos

Nº de repetición	Halo de inhibición para <i>Escherichia coli</i> (en mm)					
	<i>Myrciaria dubia</i>	<i>Citrus grandis</i>	<i>Citrus reticulata</i>	Potencia en relación a la Gentamicina		
				<i>Myrciaria dubia</i>	<i>Citrus grandis</i>	<i>Citrus reticulata</i>
1	19	18	0	0.65	0.62	0.00
2	20	17	0	0.68	0.58	0.00
3	20	18	0	0.68	0.62	0.00
4	18	14	0	0.62	0.48	0.00
5	19	13	0	0.65	0.44	0.00
6	19	14	0	0.65	0.48	0.00
7	13	15	0	0.44	0.51	0.00
8	13	13	0	0.44	0.44	0.00
9	13	12	0	0.44	0.41	0.00
10	15	14	0	0.51	0.62	0.00
11	13	15	0	0.44	0.51	0.00
12	14	17	0	0.48	0.58	0.00
13	14	15	0	0.48	0.51	0.00
14	12	15	0	0.41	0.51	0.00
15	12	13	0	0.41	0.44	0.00
16	18	16	0	0.62	0.55	0.00
17	21	14	0	0.72	0.48	0.00
18	19	14	0	0.65	0.48	0.00
19	20	12	0	0.68	0.41	0.00
20	22	13	0	0.75	0.44	0.00
21	21	13	0	0.72	0.44	0.00
Promedio	17 mm	15 mm	0 mm	0.57	0.50	0.00
Desviación estándar				0.15	0.06	0.00
CLSI	Sensible ≥	Sensible ≥ 15	Resistente ≤			

(Gentamicina)	15 mm	mm	12 mm	
---------------	-------	----	-------	--

Fuente: Laboratorio de Microbiología -Universidad César Vallejo

## ANEXO 2

### Matriz de recolección de datos

Nº de repetición	Halo de inhibición para <i>Salmonella typhi</i> (en mm)					
	<i>Myrciaria dubia</i>	<i>Citrus grandis</i>	<i>Citrus reticulata</i>	Potencia en relación a la Gentamicina		
				<i>Myrciaria dubia</i>	<i>Citrus grandis</i>	<i>Citrus reticulata</i>
1	13	19	11	0.43	0.63	0.36
2	11	18	12	0.36	0.6	0.4
3	12	18	11	0.4	0.6	0.36
4	10	16	9	0.33	0.53	0.3
5	12	15	9	0.4	0.5	0.3
6	10	18	10	0.33	0.6	0.33
7	10	16	10	0.33	0.53	0.33
8	11	17	11	0.36	0.56	0.36
9	11	19	9	0.36	0.63	0.3
10	12	13	0	0.4	0.4	0.00
11	12	12	0	0.4	0.04	0.00
12	10	14	0	0.33	0.46	0.00
13	14	18	10	0.46	0.6	0.33
14	11	16	10	0.36	0.53	0.33
15	11	16	9	0.36	0.53	0.3
16	10	21	0	0.33	0.7	0.00
17	14	22	0	0.46	0.73	0.00
18	9	20	9	0.3	0.66	0.3
19	10	16	9	0.33	0.53	0.3
20	10	18	10	0.33	0.6	0.33
21	12	17	10	0.4	0.56	0.33
Promedio	11 mm	17 mm	8 mm	0.36	0.54	0.25
Desviación estándar				0.04	0.14	0.07
CLSI (Gentamicina)	Resistente ≤ 12 mm	Sensible ≥ 15 mm	Resistente ≤ 12 mm			

Fuente: Laboratorio de Microbiología -Universidad César Vallejo

### ANEXO 3

PH de zumos de frutas						
N° de mediciones de Ph	1	2	3	4	5	Promedio
<i>Myrciaria dubia</i>	2.37	2.06	1.95	1.96	2.12	2.09
<i>Citrus grandis</i>	3.62	3.65	2.83	3.10	3.84	3.40
<i>Citrus reticulata</i>	2.46	3.00	2.56	2.40	2.60	2.60

Fuente: Laboratorio de Microbiología -Universidad César Vallejo

### ANEXO 4

M100 – S25 Aplicaciones estándar para test de susceptibilidad antimicrobiana.

Prueba/ Grupo de reporte	Agente antimicrobiano	Contenido de disco	Diámetro de zona Criterio interpretativo (aproximación de halo en mm)				CMI Criterio interpretativo (µg/mL)			
			S	SDD	I	R	S	SDD	I	R
A	Gentamicina	10 µg	≥15		13- 14	≤12	≤4		8	≥16

Fuente: Laboratorio de Microbiología -Universidad César Vallejo

## ANEXO 5

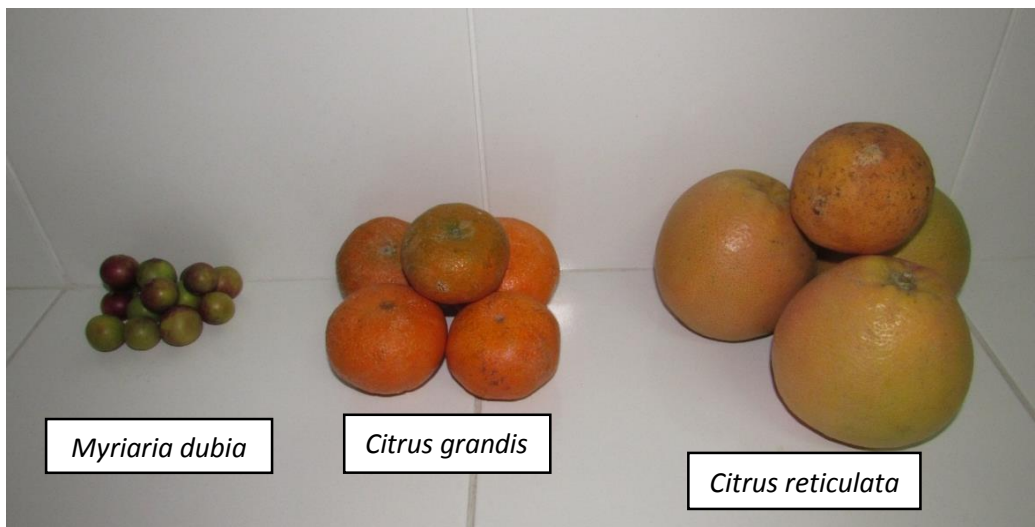
### Inhibición crecimiento bacteriano

	Microorganismo					
N° de repeticiones	<i>Escherichia Coli</i>			<i>Salmonella Typhi</i>		
	Medicamento	Diámetro de halo	CLSI $\geq 15$ mm	Medicamento	Diámetro de halo	CLSI
1	Gentamicina	29 mm	Sensible	Gentamicina	30 mm	Sensible

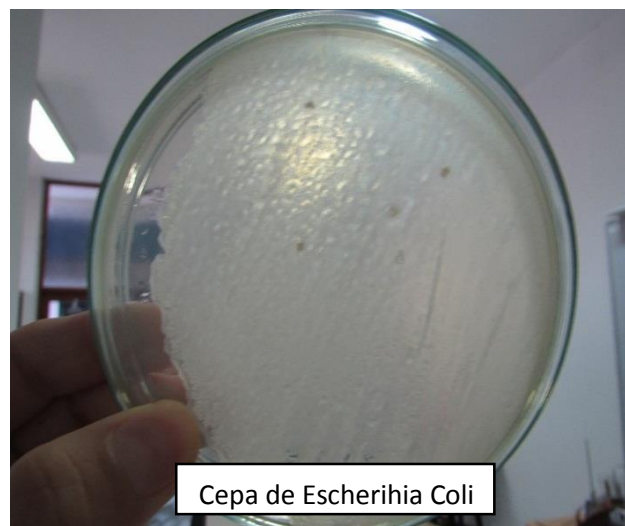
Fuente: Laboratorio de microbiología- Universidad Cesar Vallejo



✓ Fotografías



*Imagen 1: frutas naturales Myriaria dubia, Citrus grandis, Citrus reticulata*



*Imagen 2: Placa con bacteria*



*Imagen 3: Perforaciones de 5 mm en la placa de agar.*



*Imagen 4: con ayuda de la micropipeta se toma de 40 ml de zumo*



*Imagen 5: Se añade el zumo a la placa con el agar y el inculo.*



*Imagen 6: Se llevó a incubar durante 24 horas a 37°C.*



*Imagen 7: medición de halo en la placa*

## MATRIZ DE CONSISTENCIA PARA ELABORACIÓN DE INFORME DE TESIS

NOMBRE DEL ESTUDIANTE: ANDREA ELIZABETH LÓPEZ MATA

FACULTAD/ESCUELA: CIENCIAS MEDICAS / NUTRICIÓN

<b>TÍTULO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>	EFEECTO ANTIBACTERIANO DEL ZUMO DE <i>MYRCIARIA DUBIA</i> , <i>CITRUS GRANDIS</i> Y <i>CITRUS RETICULATA</i> , SOBRE <i>ESCHERICHIA COLI</i> Y <i>SALMONELLA TIPHER</i>
<b>PROBLEMA</b>	¿Cuál es el efecto antibacteriano del zumo de <i>Myrciaria dubia</i> , <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> sobre <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> ?
<b>HIPÓTESIS</b>	H1: El zumo de <i>Myrciaria dubia</i> , <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> tienen efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> . H0: El zumo de <i>Myrciaria dubia</i> , <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> no tienen efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> .
<b>OBJETIVO GENERAL</b>	Determinar el efecto antibacteriano del zumo de <i>Myrciaria dubia</i> , <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> , frente a <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> .
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>	Determinar si <i>Myrciaria dubia</i> presenta efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> . Determinar si <i>Citrus grandis</i> presenta efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> . Determinar si <i>Citrus reticulata</i> presenta efecto antibacteriano sobre <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> . Determinar efecto comparativo entre los zumos de <i>Myrciaria dubia</i> , <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> , frente a <i>Escherichia Coli</i> y <i>Salmonella Tiphy</i> y su potencia en relación al antibiótico utilizado
<b>DISEÑO DEL ESTUDIO</b>	Estudio experimental, post prueba únicamente, tres grupos experimentales, control positivo y control negativo
<b>POBLACIÓN Y MUESTRA</b>	Se trabajó con veintidós frutas de <i>Myrciaria dubia</i> , <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> procedentes del mercado La Hermelinda de distrito de Florencia de Mora.
<b>VARIABLES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ <i>Myrciaria dubia</i></li> <li>➤ <i>Citrus grandis</i></li> <li>➤ <i>Citrus reticulata</i></li> <li>➤ Inhibición del crecimiento bacteriano</li> </ul>

## OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores	Escala de medición
<i>Myrciaria dubia</i>	Es un fruto de color rojo y sabor ligeramente ácido, posee gran cantidad de antocianinas y otros compuestos fenólicos de gran valor antioxidante y regenerador celular <sup>22</sup> .	Se utilizó el zumo puro de <i>Myrciaria dubia</i>	Zumo al 100%	Cualitativa nominal.
<i>Citrus grandis</i>	Fruto del toronjo, comestible, parecida a la naranja pero achatado, de color amarillo y sabor muy ácido <sup>23</sup> .	Se utilizó zumo puro de <i>Citrus grandis</i>	Zumo al 100%	Cualitativa nominal.
<i>Citrus reticulata</i>	La mandarina es un fruto similar a la naranja, más pequeña y un poco achatada por su base, es una fuente de vitamina C, aunque en menor proporción que la naranja, es rica en fibra y posee un elevado contenido en agua <sup>24</sup> .	Se utilizó zumo puro de <i>Citrus reticulata</i>	Zumo al 100%	Cualitativa nominal.
Inhibición del crecimiento bacteriano	Evita el incremento de un microorganismo, valor llamado Concentración Mínima Inhibitoria (CMI), de manera que cuanto más pequeño sea este valor, mayor potencia antimicrobiana tiene el compuesto <sup>25</sup> .	Para la determinación de la inhibición del crecimiento bacteriano se considerará la medición del diámetro de halos de inhibición para <i>Escherichia coli</i> y <i>Salmonella tiphy</i> .	Según CLSI, susceptibilidad de enterobacterias a Gentamicina: Resistente: ≤ 12 mm Intermedio: 13 – 14 mm Sensible: ≥ 15 mm	Escala de inhibición cuantitativa continua y de razón.

MÉTODOS DE ANÁLISIS DE DATOS	Método Observable experimental
RESULTADOS	<p>Se demostró que el zumo <i>Myrciaria dubia</i> presentó un mayor efecto frente a <i>Escherichia Coli</i>, obteniendo como resultado un diámetro de halo de inhibición de <math>16.90 \pm 3.45</math> mm y para <i>Salmonella Tiphy</i> un menor halo de inhibición de <math>11.19 \pm 1.37</math> mm, lo cual indica que <i>Salmonella Tiphy</i> es resistente y <i>Escherichia Coli</i> sensible a <i>Myrciaria dubia</i>.</p> <p>El zumo de <i>Citrus grandis</i> presentó un mayor efecto antibacteriano contra la <i>Salmonella Tiphy</i> observándose un diámetro de halo de inhibición correspondiente a <math>17.10 \pm 2.47</math> mm, mientras que para <i>Escherichia Coli</i> hubo un diámetro promedio de halo de inhibición de <math>14.52 \pm 1.80</math> mm, siendo ambas muestras sensibles.</p> <p>Se muestra que el zumo de <i>Citrus reticulata</i> presentó efecto antibacteriano débil frente a <i>Salmonella Tiphy</i> con diámetro promedio del halo de inhibición <math>7.57 \pm 4.41</math> mm (considerado a la bacteria como resistente); también se encontró a <i>Escherichia Coli</i> resistente (halo de inhibición 0). Estos resultados son diferentes a lo encontrado por Picón9, quien determino que <i>Citrus reticulata</i> tuvo un efecto antimicrobiano eficaz frente a estas dos bacterias.</p> <p>Al comparar los halos de inhibición del crecimiento bacteriano para <i>Escherichia Coli</i> se halla diferencias significativas entre los zumos de <i>Myrciaria dubia</i> y <i>Citrus grandis</i> frente a <i>Citrus reticulata</i> (<math>p &lt; 0.01</math>).</p> <p>Para el caso de <i>Salmonella Tiphy</i> se observa que los halos de inhibición muestran diferencias significativas para <i>Myrciaria dubia</i>, <i>Citrus grandis</i> y <i>Citrus reticulata</i> (<math>p &lt; 0.01</math>), sin embargo quien tuvo un mejor efecto antimicrobiano frente a dicha bacteria fue Citrus.</p>
CONCLUSIONES	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Se determinó que el zumo <i>Myrciaria Dubia</i> mostró efecto inhibitorio del crecimiento de <i>Escherichia Coli</i>, sin <i>Salmonella Tiphy</i> fue resistente.</li> <li>• <i>Citrus grandis</i> mostró efecto inhibitorio del crecimiento de las cepas de <i>Escherichia Coli</i> y <i>Samonella Tiphy</i>.</li> <li>• Zumo <i>Myrciaria Dubia</i> no mostró efecto inhibitorio del crecimiento de las cepas de <i>Escherichia Coli</i> y <i>Samonella Tiphy</i>.</li> <li>• El efecto antibacteriano y la potencia comparada con gentamicina fue para el zumo de <i>Myrciaria dubia</i> 58 % frente a <i>E. Coli</i> y 37%. para <i>S. Tiphy</i>. Para el zumo de <i>Citrus grandis</i> fue 50 % para <i>E. Coli</i> y 57 % para <i>S. Tiphy</i>. Para el zumo de <i>Citrus reticulata</i> fue 0% frente a <i>Escherichia Coli</i> y 25 % para <i>Salmonella Tiphy</i>.</li> </ul>