

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO**

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**TESIS**

**FORMULACIÓN DE UN BLEND CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y ANTIFÚNGICA  
SOBRE *Malassezia furfur* ATCC 14521 USANDO LOS ACEITES ESENCIALES DE  
*Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)**

**PRESENTADA POR:**

Bach. HEIDY ANGELICA QUISPE DAVILA

Bach. CARLOS CHURA SEQUEIROS

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

**ASESORA:**

Dra. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

**CO – ASESORES:**

Dr. MARIO JESÚS URRUNAGA ORMACHEA

Dr. ROGER GIANCARLO GUTIERREZ CHAVEZ

**CUSCO - PERÚ**

**2025**

# INFORME DE ORIGINALIDAD

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

El que suscribe, Asesor del trabajo de investigación/tesis titulada: Formulación de un Blend con capacidad antioxidante y antifúngica sobre Malassezia furfur ATCC 14529 usando los aceites esenciales de Satureja boliviana (Khuñu Muña) y Luma chequen (Arayañ)

Presentado por: Heidy Angelica Quispe Davila DNI N° 72539145

presentado por: Carlos Chura Sequeiros DNI N° 72200109

Para optar el título profesional/grado académico de Químico Farmacéutico

Informo que el trabajo de investigación ha sido sometido a revisión por 01 veces, mediante el Software Antiplagio, conforme al Art. 6° del **Reglamento para Uso de Sistema Antiplagio de la UNSAAC** y de la evaluación de originalidad se tiene un porcentaje de 10%.

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

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

Por tanto, en mi condición de asesor, firmo el presente informe en señal de conformidad y adjunto las primeras páginas del reporte del Sistema Antiplagio.

Cusco, 16 de Junio de 2025

Firma

Post firma Anahi Karina Quispe Rivas

Nro. de DNI 23998511

ORCID del Asesor 0000-0001-6397-9162

Se adjunta:

1. Reporte generado por el Sistema Antiplagio.
2. Enlace del Reporte Generado por el Sistema Antiplagio: oid: 27259:467288458

# TESIS ACEITES-1.pdf

 Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco

---

## Detalles del documento

Identificador de la entrega

trn:oid:::27259:467288458

Fecha de entrega

15 jun 2025, 7:30 p.m. GMT-5

Fecha de descarga

15 jun 2025, 7:48 p.m. GMT-5

Nombre de archivo

TESIS ACEITES-1.pdf

Tamaño de archivo

4.0 MB

141 Páginas

33.665 Palabras

190.823 Caracteres

# 10% Similitud general

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

## Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto citado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

## Exclusiones

- ▶ N.º de coincidencias excluidas

---

## Fuentes principales

- 9%  Fuentes de Internet
- 0%  Publicaciones
- 4%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

---

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

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

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

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Yeny y Germán por su dedicación y esfuerzo en formarme para ser una mejor persona y un buen profesional, primando los valores y el respeto al prójimo, a mi abuelo Leonidas por darme su apoyo incondicional, brindándome las herramientas necesarias y confiando en mi proceso profesional, gracias a mis hermanos Diana y Luis por sus frases de aliento y su presencia.

A Alexandra por confiar en mí y respaldarme en los momentos más complicados transcurridos a lo largo de esta experiencia educativa.

**Atte. Carlos Chura Sequeiros**

Dedico especialmente con amor y gratitud a mis padres Nicasio Quispe Suni y Judith Davila Mendoza por su sacrificio, confianza brindada, consuelo y apoyo incondicional en cada etapa de mi vida, por la motivación de seguir adelante y no rendirme para conseguir esta meta.

A mi hermana Ana y sobrino Jose Pablo por su apoyo constante, palabras de ánimo y cariño que me ayuda a ser una mejor persona y dar lo mejor de mí, pese a las circunstancias.

Con mucho cariño este proyecto de investigación es dedicado a ellos.

**Atte. Heidy Angelica Quispe Davila**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradecer a Dios por habernos guiado en toda nuestra etapa académica, iluminándonos y permitiéndonos llegar hasta donde estamos, por poder seguir disfrutando de nuestras familias y de cada uno de los logros que vamos adquiriendo.

A nuestras familias por ser la razón y ejemplo para superarnos, por su apoyo y palabras de aliento para poder concluir este proceso de manera satisfactoria.

Agradecer a nuestra asesora de tesis Dra. Q.F. Carla del Carpio Jiménez por su apoyo incondicional, con la disposición de aconsejar y guiarnos en cada etapa de este proceso, gracias por la dedicación, paciencia y brindarnos sus conocimientos con la experiencia previa para poder llevar a cabo este trabajo.

Agradecer a nuestros Co – Asesores, Mgt. Q.F. Roger Giancarlos Gutierrez Chavez y el Dr. Q.F. Mario Jesús Urrunaga Ormachea igualmente por su orientación, el tiempo de guiarnos y apoyarnos en este proceso, siendo docentes con una amplia experiencia y brindándonos su apoyo en la parte teórica como experimental de este trabajo.

A nuestra querida plana docente de la escuela profesional de “Farmacia y Bioquímica”, quienes participaron en nuestro desarrollo profesional y personal durante la carrera; que brindaron su ayuda y conocimientos durante todos estos años para llegar a donde estamos ahora.

Atte. Carlos Chura Sequeiros y Heidi Angelica Quispe Davila

## ÍNDICE

DEDICATORIA .....	II
AGRADECIMIENTOS .....	III
RESUMEN .....	XI
ABSTRACT .....	XII
INTRODUCCIÓN .....	XIII
CAPÍTULO I .....	1
GENERALIDADES .....	1
1.1. Planteamiento del problema .....	1
1.2. Formulación del problema .....	2
1.3. Objetivos de la investigación .....	3
1.3.1. Objetivo general .....	3
1.3.2. Objetivos específicos .....	3
1.4. Justificación de la investigación .....	3
1.4.1. Justificación teórica .....	3
1.4.2. Justificación social .....	4
1.4.3. Justificación práctica .....	4
1.5. Hipótesis .....	5
CAPÍTULO II .....	6
MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL .....	6
2.1. Visión histórica .....	6
2.2. Antecedentes .....	7
2.2.1. Antecedentes internacionales .....	7
2.2.2. Antecedentes nacionales .....	9
2.2.3. Antecedentes locales .....	11
2.3. Estado de la cuestión .....	14
2.4. Bases teórico – científicas .....	15

2.4.1.	<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) .....	15
2.4.2.	<i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	17
2.4.3.	Aceites esenciales.....	19
2.4.4.	Extracción de aceites esenciales.....	22
2.4.5.	Destilación por arrastre de vapor.....	22
2.4.6.	<i>Malassezia furfur</i> .....	23
2.4.7.	Medios de cultivo para aislamiento.....	25
2.4.8.	Pitiriasis versicolor.....	26
2.4.9.	Dermatitis seborreica .....	26
2.4.10.	Prueba de sensibilidad.....	26
2.4.11.	Antioxidante.....	27
2.4.12.	Clasificación de los antioxidantes .....	27
2.4.13.	Radicales libres .....	27
2.4.14.	Capacidad Antioxidante.....	28
2.4.15.	Actividad antioxidante.....	29
2.4.16.	Métodos de evaluación de la actividad antioxidante .....	30
2.4.17.	Escala McFarland.....	31
2.4.18.	Antifúngicos.....	31
2.4.19.	Mecanismos de acción .....	31
2.4.20.	Actividad antifúngica.....	32
2.4.21.	Descripción de los Fármacos usados como Patrones Comparativos en el presente Estudio .....	33
2.4.22.	Blend .....	33
2.4.23.	Formulación.....	34
2.4.24.	Cromatografía.....	35
2.4.25.	Cromatografía de gases .....	36
2.5.	Definición de términos básicos.....	37
CAPÍTULO III.....		38

METODOLOGÍA.....	38
3.1. Materiales biológicos .....	38
3.2. Materiales e instrumentos de laboratorio.....	38
3.2.1. Materiales de laboratorio.....	38
3.2.2. Instrumentos .....	38
3.2.3. Equipos de laboratorio .....	39
3.2.4. Reactivos y solventes.....	39
3.2.5. Reactivos para la determinación de la capacidad antioxidante.....	39
3.2.6. Reactivos empleados como patrón .....	39
3.2.7. Medios de cultivo y discos para antibiograma .....	39
3.2.8. Otros materiales.....	40
3.3. Diseño metodológico.....	40
3.3.1. Tipo de Estudio .....	40
3.3.2. Diseño de la Investigación.....	40
3.3.3. Enfoque de la Investigación .....	40
3.4. Diseño experimental.....	41
3.4.1. Formulación del Blend.....	41
3.4.2. Ensayo de la Capacidad Antioxidante .....	39
3.4.3. Ensayo de la Capacidad Antifúngica .....	44
3.5. Variables .....	39
3.5.1. Variables implicadas .....	39
3.6. Criterios de inclusión y exclusión.....	40
3.7. Operacionalización de variable.....	42
3.8. Diagrama del procedimiento.....	45
3.9. Procedimiento general.....	46
3.9.1. Determinación de porcentaje de rendimiento .....	46
3.9.2. Pruebas de solubilidad .....	47
3.9.3. Cromatografía de gases.....	47

3.9.4.	Formulación de los Blends .....	47
3.9.5.	Determinación de capacidad antioxidante de los Blends .....	47
3.9.6.	Determinación de capacidad antifúngica de los Blends .....	51
3.10.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos .....	52
3.11.	Técnicas para procesamiento y análisis de la información .....	52
CAPÍTULO IV	.....	53
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	.....	53
4.1.	Determinación de porcentaje de rendimiento .....	53
4.2.	Pruebas de solubilidad .....	54
4.3.	Composición química de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	56
4.4.	Determinación de la Capacidad Antioxidante .....	61
4.4.1.	Curva de calibración del patrón Trolox .....	61
4.4.2.	Capacidad antioxidante por el método de DPPH de los Blends formulados	65
4.4.3.	Capacidad antioxidante por el método de ABTS de los Blends formulados	70
4.4.4.	Comparación del porcentaje de inhibición de los Blends por los métodos DPPH y ABTS .....	75
4.5.	Determinación de la Capacidad Antifúngica .....	77
CONCLUSIONES	.....	81
SUGERENCIAS	.....	83
BIBLIOGRAFÍA	.....	84
ANEXOS	.....	97

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1. Formulación del sistema Blend usando aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) (39) .....	41
TABLA N°2. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del patrón Trolox usando el ensayo DPPH .....	39
TABLA N°3. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del patrón Trolox usando el ensayo ABTS.....	40
TABLA N°4. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del Blend de aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) usando el ensayo DPPH.....	41
TABLA N°5. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del Blend de aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) usando el ensayo ABTS .....	42
TABLA N° 6. Diseño para la determinación de la capacidad antifúngica del Blend de aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) frente a <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521 .....	44
TABLA N°7. Variables implicadas .....	42
TABLA N°8. Variables no implicadas .....	44
TABLA N°9. Porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	53
TABLA N° 10. Pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	54
TABLA N°11. Composición química del aceite esencial de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) mediante cromatografía de gases .....	56
TABLA N° 12 Composición química del aceite esencial de <i>Luma chequen</i> (Arrayán) mediante cromatografía de gases .....	58
TABLA N°13. Comparación de la composición química los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) mediante cromatografía de gases .....	60
TABLA N°14. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para DPPH) .....	61

TABLA N°15. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para ABTS).....	63
TABLA N° 16. Absorbancia y porcentaje de inhibición por el método DPPH de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	65
TABLA N° 17. Análisis de varianza de la Capacidad Antioxidante por el método DPPH de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) .....	68
TABLA N°18. Prueba Post Hoc de Tukey para la Capacidad antioxidante por el método DPPH de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) .....	69
TABLA N° 19. Absorbancia y porcentaje de inhibición por el método ABTS de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	70
TABLA N° 20. Análisis de varianza para la Capacidad Antioxidante por el método ABTS de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) .....	73
TABLA N° 21. Prueba Post Hoc de Tukey para la Capacidad Antioxidante por el método ABTS de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) .....	74
TABLA N°22. Comparación del porcentaje de inhibición de los Blends formulados por los métodos DPPH (2.2 – difeni – 1 - picrilhidrazilo) y ABTS (2.2´-azinobis [3 – etil benzo tiazolina – 6 - ácido sulfónico]-sal de diamonio). .....	75
TABLA N° 23. Diámetros de los halos de inhibición realizado a los diferentes Blends formulados .....	77
TABLA N° 24. Análisis de varianza para la Capacidad Antifúngica de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán) .....	79
TABLA N° 25. Prueba Post Hoc de Tukey para la Capacidad Antifúngica de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	80

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1. <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) .....	15
FIGURA N° 2. <i>Luma chequen</i> (Arrayán) .....	18
FIGURA N° 3. <i>M. Furfur</i> en medio de Dixon modificado a 32°C.....	24
FIGURA N° 4. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para DPPH) .....	62
FIGURA N° 5. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para ABTS).....	64
FIGURA N° 6. Relación de la concentración con el porcentaje de inhibición de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	67
FIGURA N° 7. Relación de la concentración con el porcentaje de inhibición de los Blends formulados de los aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) y <i>Luma chequen</i> (Arrayán).....	72

## RESUMEN

El objetivo principal de esta investigación fue evaluar la capacidad antioxidante y antifúngica de la formulación de un Blend de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) a distintas concentraciones sobre *Malassezia furfur* ATCC 14521. La metodología del estudio fue de tipo correlacional, con diseño cuasiexperimental y enfoque cuantitativo. Los aceites esenciales fueron adquiridos de la empresa Econature, quien los obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor. Se realizaron pruebas preliminares a ambos aceites esenciales como solubilidad, porcentaje de rendimiento, y mediante cromatografía de gases se identificó su composición química. Se determinó la capacidad antioxidante de los Blends mediante los métodos DPPH y ABTS con grupo control, se usó Trolox como patrón, y se determinó la capacidad antifúngica mediante difusión en agar disco-placa frente a cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521 usando como fármacos patrones Fluconazol y Terbinafina. Entre los resultados obtenidos, el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) presentó un porcentaje de rendimiento de 1.04% y 0.73% el de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán). Ambos aceites presentaron polaridad intermedia. El Blend 8 formulado con 94/6 µg/mL demostró alta capacidad antioxidante con 89.50% de captación del radical DPPH y 93.57% de ABTS, además una buena capacidad antifúngica con un halo de inhibición de 26.2 mm frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521. Se realizó la prueba de ANOVA para evaluar las diferencias significativas de los resultados obtenidos, observándose diferencias estadísticamente relevantes entre las medias de cada Blend formulado. Se concluyó que los Blends de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) presentan capacidad antioxidante y antifúngica frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521, y mejora cuando el aceite de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) se encuentra en mayor proporción.

**Palabras claves:** *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), *Luma chequen* (Arrayán), *Malassezia furfur* ATCC 14521, capacidad antioxidante, capacidad antifúngica, aceites esenciales y Blends.

## ABSTRACT

The main objective of this present study was to evaluate the antioxidant and antifungal capacity of the formulation of a blend of essential oils of *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) and *Luma chequen* (Arrayán) at different concentrations on *Malassezia furfur* ATCC 14521. The methodology of the study was correlational, with a quasi-experimental design and quantitative approach. The essential oils were purchased from Econature, which obtained them by steam distillation. Preliminary tests were performed on both essential oils, such as solubility, percentage yield, and their chemical composition was identified by gas chromatography. The antioxidant capacity of the blends was determined by DPPH and ABTS methods with a control group, Trolox was used as a standard, and the antifungal capacity was determined by diffusion in disc-plate agar against strains of *Malassezia furfur* ATCC 14521 using Fluconazole and Terbinafine as standard drugs. Among the results obtained, the essential oil of *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) presented a yield percentage of 1.04% and 0.73% for the essential oil of *Luma chequen* (Arrayán). Both oils showed intermediate polarity.

Blend 8 formulated with 94/6 µg/mL showed high antioxidant capacity with 89.50% DPPH radical uptake and 93.57% ABTS, as well as good antifungal capacity with an inhibition halo of 26.2 mm against *Malassezia furfur* ATCC 14521. The ANOVA test was performed to evaluate the significant differences in the results obtained, observing statistically relevant differences between the means of each formulated Blend. It was concluded that the essential oil blends of *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) and *Luma chequen* (Arrayán) have antioxidant and antifungal capacity against *Malassezia furfur* ATCC 14521, and improve when the oil of *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) is present in greater proportion.

**Key words:** *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), *Luma chequen* (Arrayán), *Malassezia furfur* ATCC 14521, antioxidant capacity, antifungal capacity, essential oils and blends.

## INTRODUCCIÓN

Cada vez es más habitual el empleo de productos naturales con propósitos terapéuticos., sin embargo, la información de algunas plantas nativas de nuestra región es escasa, no se cuenta aún con bases científicas sólidas. Debido a la gran aplicación de los aceites esenciales, se tiene la necesidad de formular nuevos productos mezclando los aceites esenciales primarios, a estas mezclas se les conoce como Blends; con la finalidad de potenciar o sinergizar sus actividades biológicas y sus efectos terapéuticos. (1)

Los aceites esenciales tienen una amplia aplicación tanto para alimentos, artículos de limpieza y medicamentos o cosméticos. Existen varios ejemplos de su uso: tónicos para el cabello, pomadas antisépticas, perfumes entre otros. Sus características principales son su olor y su volatilidad, esto debido a su compleja composición química. Generalmente contienen en su estructura alcoholes, ésteres, aldehídos, terpenos y cetonas. (2) Estos aceites se extraen por destilación por arrastre de vapor, además se diferencian de los aceites vegetales ya que tienen la ventaja de que no se ponen rancios en el tiempo por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y antifúngicas. (3)

La propiedad antioxidante de los aceites esenciales es crucial para la salud, al neutralizar las moléculas inestables y radicales libres producidos en el proceso del metabolismo normal de las células (cambios químicos ocurridos en una célula), ayudan a retardar o prevenir esta oxidación de moléculas. Los radicales libres se acumulan ocasionalmente en las células, dañando diversas biomoléculas incluyendo el ADN, lípidos, además de las proteínas, produciendo enfermedades en las personas. (4)

Las levaduras del género *Malassezia* al igual que otras reconocidas forman parte del microbiota normal del hombre. Las diferentes especies que se conocen son capaces de causar diversas enfermedades cutáneas tanto en el hombre como en animales. Se localiza en la parte superficial de la capa dérmica de la piel, y puede penetrar las células córneas, lo que puede provocar la característica despigmentación en las zonas seboreicas afectadas. (5)

La propuesta en la presente investigación, es el estudio de la capacidad antioxidante y antifúngica de los Blends a diferentes concentraciones de dos aceites esenciales de plantas que crecen en la zona andina de nuestra región: *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), buscando un efecto sinérgico entre ambos aceites, que permita alternativas de origen natural, los resultados obtenidos fomentarán la revalorización del uso de productos naturales de nuestra región, además de contribuir con validación científica de estas plantas.

# CAPÍTULO I

## GENERALIDADES

### 1.1. Planteamiento del problema

La falta de investigación que valide los efectos positivos y negativos de los principios activos de plantas medicinales es reconocida por la OMS, quien menciona que el uso de medicinas tradicionales debe darse cuando se hayan argumentado su efectividad y representen el menor riesgo posible para la salud, haciendo énfasis en que no siempre son seguros y pueden traer consecuencias negativas para la salud. Muchas plantas con efectos terapéuticos carecen de investigaciones que demuestren científicamente estos efectos, y el de sus principios activos.

De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, OMS, estima que el 80% de los habitantes del planeta se apoyan en la medicina tradicional para cubrir sus requerimientos de cuidado primario en salud, usando las especies vegetales con fines medicinales, culturales e incluso nutricionales, además más del 50% de los medicamentos modernos son obtenidos de especies vegetales. (6)

En América Latina países como: Bolivia, Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, México, Venezuela y Perú, cuentan con una amplia variedad de especies vegetales evaluadas científicamente con fines terapéuticos. La abundancia de plantas medicinales en Perú se encuentra enmarcada en más de 4400 especies de usos reconocidos por las comunidades locales, de las cuales un considerable número se manifiesta en la región andina. (7)

En la ciudad del Cusco se sigue utilizando y gestionando especies de plantas medicinales que, en su mayoría, provienen del saber ancestral, usualmente en áreas rurales. Se observó aproximadamente un registro de 152 especies conocidas en Cusco con diferentes efectos, sin embargo, muchas de estas especies carecen de bases científicas. (8)

Dentro de estas se encuentra la *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), que tiene propiedades farmacoterapéuticas: antisépticas, antiespasmódicas, analgésicas, antiescabióticas, etc. Su aplicación también se da como conservante de alimentos frescos como insecticida y ectoparasiticida. Esta planta crece en la zona de Sacsayhuamán, cerca de la ciudad del Cusco. Tiene como usos tradicionales: para dolores de estómago, cólicos y empachos, para contrarrestar los dolores de cabeza y

los mareos, para provocar la expulsión de las lombrices intestinales, entre otros usos. (9) Se ha demostrado por su composición que el extracto de sus hojas y su aceite esencial, poseen actividad antiinflamatoria, antibacteriana, antifúngica y antioxidante. (10) Se realizaron estudios epidemiológicos y laboratoriales en los que se detectaron antioxidantes protectores tales como: selenio, vitaminas C y E,  $\beta$ -caroteno y otros carotenoides, además de compuestos polifenólicos que en su mayoría son derivados de productos origen vegetal. (11)

Así mismo, en diferentes estudios se ha demostrado la existencia de muchos terpenos presentes en los aceites esenciales que presentan actividad antioxidante y antifúngica, además se sabe que la asociación de aceites esenciales ha demostrado el aumento de la actividad biológica, teniendo en cuenta además que las propiedades dependen de la composición química de los componentes presentes en los aceites esenciales y de su capacidad lipofílicas o hidrofílicas. (12)

Actualmente el estudio de las propiedades farmacológicas, interacciones y posibles efectos antagónicos aplicables sobre extractos de plantas naturales en nuestra región nos permite tener una base científica, ya que el estudio en otros países se encuentra más avanzado. En investigaciones previas hacen uso de modelos predictivos para la ejecución de estas mezclas de extractos que aseguren una efectividad prolongada. (13) En este sentido, se seleccionaron las especies *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), ambas con estudios previos que permitieron desarrollar la presente investigación, para determinar la capacidad antioxidante y antifúngica de sus Blends, proporcionando una alternativa natural con aplicación en diversas industrias, y su recomendación en la prevención de enfermedades degenerativas y en el tratamiento de infecciones fúngicas. El presente estudio contribuye además en el desarrollo de posteriores investigaciones sobre estas especies y el uso de Blends a base de extractos naturales.

## **1.2. Formulación del problema**

¿La formulación de un Blend tendrá capacidad antioxidante y antifúngica sobre *Malassezia furfur* ATCC 14521, usando los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)?

### **1.3. Objetivos de la investigación**

#### **1.3.1. Objetivo general**

Evaluar la capacidad antioxidante y antifúngica de la formulación de un Blend de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) sobre *Malassezia furfur* ATCC 14521.

#### **1.3.2. Objetivos específicos**

1. Realizar las pruebas preliminares de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán): porcentaje de rendimiento y pruebas de solubilidad.
2. Identificar la composición química de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) utilizando cromatografía de gases
3. Determinar la capacidad antioxidante de los Blends formulados, por los métodos de DPPH (2,2 – difeni – 1 - picrilhidrazilo) y ABTS (2,2´-azinobis [3 – etil benzo tiazolina – 6 - ácido sulfónico]-sal de diamonio).
4. Determinar la capacidad antifúngica in vitro de los Blends a diferentes concentraciones frente a cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521.
5. Comparar la mejor concentración del Blend formulado con capacidad antioxidante y antifúngica.

### **1.4. Justificación de la investigación**

#### **1.4.1. Justificación teórica**

Las infecciones causadas por *Malassezia furfur* representan un desafío terapéutico debido a su capacidad de adaptación al ambiente lipídico de la piel y al aumento de la resistencia a antifúngicos convencionales como el Fluconazol. (14) Este microorganismo, aunque comensal en la flora cutánea, puede desencadenar patologías como dermatitis seborreica, pitiriasis versicolor y foliculitis. (15)

En este contexto, los aceites esenciales se han posicionado como una alternativa terapéutica promisoriosa por su contenido en compuestos fenólicos, terpenoides y aldehídos, los cuales poseen propiedades antifúngicas y antioxidantes. (16-17) Diversos estudios han documentado que la acción de los aceites esenciales se basa en la desestabilización de la membrana celular fúngica, inhibiendo la síntesis de ergosterol y aumentando la permeabilidad celular. (18)

*Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) son especies sudamericanas con escaso estudio fitoquímico formal, a pesar de su uso tradicional en la medicina popular. Investigaciones recientes han identificado en *Satureja* spp. compuestos bioactivos como carvacrol, timol y  $\gamma$ -terpineno, con reconocida actividad antimicrobiana (19), mientras que *Luma chequen* ha demostrado poseer flavonoides y taninos con capacidad antioxidante y antimicótica. (20)

La formulación de un blend entre estos aceites podrá mejorar la eficacia del tratamiento antifúngico, al combinar distintas vías de acción y reducir la concentración mínima inhibitoria (CMI), disminuyendo así potenciales efectos adversos. Esta propuesta se fundamenta en los principios de la farmacognosia moderna, que promueve la valorización de los productos naturales con base científica. (21)

#### **1.4.2. Justificación social**

Las micosis superficiales representan uno de los grupos de enfermedades dermatológicas más comunes en el mundo, especialmente en países tropicales y en regiones con condiciones higiénicas precarias. (22) Aunque no siempre son graves, estas infecciones afectan la calidad de vida, provocan estigmatización social y, en algunos casos, limitaciones laborales. (23)

La creciente demanda de terapias naturales y accesibles ha impulsado la exploración de la biodiversidad local como fuente de tratamientos eficaces, seguros y económicos. En este sentido, la validación científica del uso tradicional de especies como *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) fomentará el reconocimiento del conocimiento ancestral y promoverá su integración en estrategias de salud pública. (24)

Además, el aprovechamiento sostenible de estas especies nativas puede ofrecer oportunidades económicas a comunidades rurales o indígenas que dependen del cultivo o recolección de plantas medicinales, promoviendo la bioeconomía local y la conservación de la biodiversidad. (25) Por tanto, este estudio responde también a los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS), en particular los relacionados con la salud, la equidad y la sostenibilidad ambiental. (26)

#### **1.4.3. Justificación práctica**

Esta investigación tiene como propósito desarrollar un blend de aceites esenciales con propiedades antifúngicas y antioxidantes comprobadas, que pueda ser la base para formulaciones tópicas con potencial terapéutico frente a *Malassezia furfur*. Esta

propuesta contempla tanto el diseño experimental como la proyección a aplicaciones reales en el campo de la dermocosmética y la medicina natural.

Se utilizaron metodologías científicas validadas, como ensayos de difusión de discos en agar, y pruebas de capacidad antioxidante como DPPH y ABTS. (27,28) La formulación resultante podrá integrarse en productos como cremas, lociones o shampoos.

Asimismo, los resultados generarán una base sólida para futuras investigaciones sobre toxicidad, estabilidad y eficacia clínica, contribuyendo a la eventual transferencia tecnológica hacia los investigadores, incluyendo a la población en general, hasta laboratorios, empresas farmacéuticas o cooperativas de producción natural. Esto potenciará la aplicación práctica del conocimiento generado y favorecerá el desarrollo de nuevas alternativas de origen natural. (29)

### **1.5. Hipótesis**

El Blend formulado usando los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) presenta capacidad antioxidante y antifúngica sobre *Malassezia furfur* ATCC 14521.

## CAPÍTULO II

### MARCO TEÓRICO CONCEPTUAL

#### 2.1. Visión histórica

El uso de plantas medicinales se remonta a la era del paleolítico, el cual fue encontrado en 1960 por Ralph Solecki, quien halló varios restos fósiles de neandertales en la cueva de Shanidar, situada en la región montañosa de Zagros en Irak. (30) En el antiguo Egipto, el uso de las plantas medicinales, como el uso de aceite de ricino para fines medicinales, se documentaron en el papiro de Ebers, en Grecia; en la india, se hizo uso de la medicina herbal. Durante la edad media, los monasterios se convirtieron en centros de cultivos y estudio de las plantas medicinales. (31) En América, la herbolaria indígena fue muy importante ya que el uso de las plantas medicinales y los productos de origen natural, con la colonización permitió la fusión de los conocimientos europeos. (32) Según la OMS las plantas medicinales son precursores importantes para creación de algunos medicamentos que son eficaces a través de los métodos de investigación. (33)

Las especies miembros de las familias Lamiaceae y Myrtaceae son en su mayoría plantas ornamentales, medicinales y aromáticas, y se usan hasta el momento como medicinas herbales. (34-35)

A la planta *Satureja boliviana* se le conocía desde antes como Khuñu Muña, Inca Muña o té de los Incas, siendo usada como tratamiento para dolores de estómago, indigestión, meteorismo y cólicos intestinales. En algunas zonas del altiplano continúan con el uso de esta planta para proteger alimentos y evitar su descomposición, conocimiento transmitido por sus antepasados. (36)

En la medicina herbal se usa a *Luma chequen* (Arrayán), para indigestión, diarreas, afecciones respiratorias, antiséptico, además de su uso costumbrista por comunidades para la conservación de sus difuntos. (37)

La composición de sustancias bioactivas que han sido evaluadas con el pasar del tiempo permiten darle la base científica para probar estos usos tradicionales.

## 2.2. Antecedentes

### 2.2.1. Antecedentes internacionales

**B. Benamar, N. Gourine, M. Quinten y M. Yousfi. Efectos sinérgicos de los aceites esenciales y los extractos fenólicos sobre las actividades antimicrobianas utilizando mezclas de *Artemisia campestris*, *Artemisia herba alba* y *Citrus aurantium* (2024). (38)**

**Objetivo:** Investigar los efectos sinérgicos de las combinaciones binarias y ternarias de extractos utilizando diferentes proporciones de mezcla de los siguientes extractos de plantas: *Artemisia campestris* (AC), *Artemisia herba alba* (AHA) y *Citrus aurantium* (CA), sobre actividades antimicrobianas. **Metodología:** El estudio es de tipo experimental, donde se determinaron y evaluaron las actividades antimicrobianas de los AE y los extractos fenólicos contra cinco cepas. **Resultados:** Todas las mezclas de AE probadas exhibieron sinergismo o sinergismo moderado contra bacterias Gram positivas, *E. faecalis* y *S. aureus*, mientras que no se observaron efectos sinérgicos o aditivos contra *P. aeruginosa*. Para los AE, los resultados del DIZ mostraron la existencia de sinergismo para diferentes combinaciones de mezclas binarias, como AC/AHA o AHA/CA contra *Escherichia coli* y AC/CA contra *Enterobacter faecalis*. Además, las mezclas ternarias de AC:AHA:CA en una proporción de 1/6:2/3:1/6 exhibieron un efecto sinérgico, medido por el CI, contra *E. coli*. Por otro lado, para los extractos fenólicos, se observaron efectos sinérgicos para mezclas binarias de AC/CA en diferentes proporciones contra cepas de *E. coli*, *E. faecalis* y *Pseudomonas aeruginosa*. **Conclusiones:** las mezclas ternarias de extractos fenólicos presentaron sinergia contra cepas de *E. coli*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa* e incluso *C. albicans*. En este caso, las proporciones de mezcla fueron factores determinantes cruciales para maximizar el efecto sinérgico. El estudio estableció que la proporción de un solo fármaco podría desempeñar un papel esencial en la determinación de la bioeficacia de un tratamiento de combinación de fármacos. (38)

**B. Benamar, N. Gourine, M. Quinten, M. Harrat, A. Benarfa, M. Yousfi; Efectos sinérgicos de aceites esenciales y extractos fenólicos en las respuestas de actividades antioxidantes usando dos especies de *Artemisia* (*A. campestris* y *A. herba alba*) combinadas con *Citrus aurantium* (2022). (34)**

**Objetivo:** Proporcionar las fórmulas de extractos que presentan efectos sinérgicos con *C. aurantium* como fuente de gran cantidad y costos bajos. **Metodología:** El estudio fue de tipo experimental, donde se usaron las partes aéreas de *A. campestris*

y *A. herba alba*. En el caso de *C. aurantium* se usaron los frutos. En cuanto a la metodología se usaron la extracción de los aceites esenciales y la extracción por solventes de fenólicos además de la cuantificación de componentes y su actividad antioxidante. **Resultados:** El rendimiento que presentaron, teniendo en cuenta el método de hidrodestilación, fueron de 0.63, 0.49 y 2.03% para los extractos de *A. campestris*, *A. herba alba* y *C. aurantium* respectivamente, siendo este último con un mejor rendimiento entre las diferentes especies de *Artemisia*. Los resultados de la actividad antioxidante revelaron un valor IC50 de 5.69 y 6.17 mg/mL respectivamente mediante el ensayo DPPH. Sin embargo, la actividad antioxidante de los aceites esenciales en combinación es relativamente más baja que usando los estándares. **Conclusiones:** Se muestra que la combinación de aceites esenciales con actividad antioxidante fuerte con uno débil, mejora significativamente su efecto sinérgico. (34)

**M. Salcedo, R. Alonso; *Satureja boliviana* (Lamiaceae). Una puesta al día de “muña blanca” (2021). (36)**

**Objetivo:** Dejar al entendimiento de los profesionales de la salud los últimos estudios que vino desarrollando sobre *Satureia boliviana* (Benth.) Brig. (Lamiaceae) que se viene aplicando en distintas áreas añadiendo ensayos clínicos comprobados. **Metodología:** El estudio es de tipo descriptivo. Se llevó a cabo un estudio de datos vinculados a investigaciones de la composición fitoquímica, de estudios preclínicos y clínicos de la especie *Satureja boliviana* (Benth.) Brig. (Lamiaceae), para posteriormente vincular sus acciones más destacadas y exponerlas en grupos de acción. **Resultados:** Se hallaron 45 referencias bibliográficas que se incorporaron y se elaboró el análisis en acápites acerca de sinonimias, descripción botánica, aplicaciones etnomedicinales, composición química, farmacodinamia, farmacocinética, toxicología, interacciones, contraindicaciones, estatus legal y modos de uso. (36)

**Y. Arteaga, L. R. Bravo, Y. García, A. Tapuy, A. Bermudez, Dorys M. Guzmán; Evaluación de los efectos sinérgicos de la actividad antioxidante en mezclas de los aceites esenciales de *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. y *Coriandrum sativum* L. usando un diseño de mezcla centroide simplex (2019). (39)**

**Objetivo:** Evaluar los efectos sinérgicos de la actividad antioxidante de las mezclas del aceite esencial de *A. graveolens*, *T. vulgaris* y *C. sativum*. **Metodología:** El tipo de estudio es experimental. Se utilizó material vegetal y un destilador de vapor. Se realizó la obtención de los aceites esenciales respectivos y se preparó la muestra con las diluciones requeridas. Posterior a ello se eliminaron los radicales mediante los

métodos FRAP y ABTS. Finalmente se aplicó el diseño de mezcla centroide simplex para averiguar los efectos e interacción de las mezclas. **Resultados:** En las mezclas que se preparó el *T. vulgaris* estaba con una proporción de 66.7% la cual es de actividad mayor. Las proporciones de las mezclas también mostraron valores elevados de actividad antioxidante como también un mayor efecto sinérgico: 66.7% para *T. vulgaris*, 16.7% *C. sativum* y 16.7% para *A. graveolens*. **Conclusiones:** Las proporciones de las mezclas de 66.7% de *T. vulgaris*, 16.7% de *C. sativum* y 16.7% de *A. graveolens*, mostraron valores de sinergia levemente mayores con respecto a un modelo de regresión lineal a diferentes proporciones. (39)

### 2.2.2. Antecedentes nacionales

#### **C. Cabrera; Desarrollo de un sistema preservante con base de un extracto natural y tres aceites esenciales en la formulación de emulsiones cosméticas (2020). (13)**

**Objetivo:** Desarrollo de un sistema en base de extractos vegetales y 3 aceites esenciales con efectividad conservante en formulaciones de emulsiones cosméticas. Además de la formulación de 2 emulsiones cosméticas incluyendo el sistema a base de extractos vegetales y aceites esenciales, determinando así mismo el rango de concentración óptimo de dicho sistema. **Metodología:** El estudio es de tipo experimental, teniendo como materiales al extracto vegetal de semillas de *Citrus paradisi* (toronja) y los aceites esenciales de *Luma chequen* (arrayán), *Melaleuca alternifolia* (árbol de té) y *Cymbopogon citratus* (hierba luisa). **Resultados:** El sistema de extracto vegetal y aceites esenciales presentan actividad antimicrobiana limitada, por lo que no podría usarse como conservante único. Así mismo para sus estudios de estabilidad, el sistema conservante de concentración 0,25%, es un eficaz antimicrobiano para ambos tipos de emulsión. **Conclusiones:** El sistema que desarrollaron presenta actividad conservante en proporciones del 0,25 al 1 %, por tanto, puede usarse como alternativa de los parabenos. Así mismo se prepararon las emulsiones O/W y W/O, presentando en ambos casos, compatibilidad en la formulación. Finalmente, se observa que la actividad que presenta este sistema es firme en condiciones de estabilidad acelerada. (13)

#### **K. Cadillo; Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayán” (2020). (40)**

**Objetivo:** Concluir el contenido de polifenoles y flavonoides de las hojas de *Luma chequen*. Además de evidenciar su composición fitoquímica de los principios activos en el extracto hidroalcohólico de la planta. Finalmente realizar la determinación de contenido de fenoles totales y flavonoides, y su capacidad antioxidante. **Metodología:** El estudio es de naturaleza experimental dado que llevan a cabo una acción con el objetivo de observar un resultado. Además, en este diseño se manejan variables y se pueden regular las condiciones en las que ocurre. Se usó como principal material las hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayán", y para los análisis respectivos se usaron los equipos de filtración, espectrofotómetro UV-Vis, rotavapor y vortex. El tipo de investigación es experimental y la metodología usada es de Folin-Ciocalteu (Fenoles totales), DPPH y ABTS. **Resultados:** Para el análisis fitoquímico se observaron compuestos fenólicos, taninos, saponinas, lactonas, trazas de glicósidos y esteroides. En cuanto a los compuestos fenólicos totales, se midieron las absorbancias a 765nm, elaborándose la curva patrón, teniendo la absorbancia promedio en 0.538nm. Para flavonoides totales se realizó las lecturas de absorbancias de la solución estándar quercetina a 420 nm, teniendo una lectura promedio de 0.4826nm. Finalmente, del método de DPPH, se determinó el porcentaje de capacidad secuestrante de los radicales libres para diversas concentraciones del extracto. Y con el método ABTS se halla los valores del porcentaje de capacidad secuestrante de los radicales libres, así como el CI50, teniendo resultado de 415.07ug/mL. **Conclusiones:** Se evidenció la presencia de flavonoides, taninos, compuestos fenólicos, saponinas, y poca presencia de antraquinonas, trazas de glicósidos, triterpenoides y esteroides en el extracto hidroalcohólico de *Luma chequen*. Presentando compuestos fenólicos en 13.83 mg de ácido gálico por gramo de extracto seco y flavonoides en 15.94 mg de quercetina por gramo de extracto seco. Determinándose así mismo el CI50 por DPPH siendo 22.87 ug/mL, por otro lado, el CI50 para ABTS fue de 415.07 ug/mL. (40)

**D. Castillo; Evaluación de la actividad antifúngica del gel de *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña" frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis (2017). (41)**

**Objetivo:** Valorar el efecto antifúngico de gel formulado con el aceite esencial de *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña" frente a *Candida spp.* de pacientes portadores de prótesis. **Metodología:** El estudio es de tipo analítico experimental de corte transversal. Los pacientes fueron divididos en tres categorías; aquellos que no llevaban prótesis, aquellos que llevaban una prótesis metálica parcial removible y los que llevaban una prótesis completa. Se recolectaron muestras de saliva a pacientes

no portadores en diversos frascos esterilizados, mientras que a aquellos con una prótesis removible se les instruyó a guardarlas en una bolsa sellada que contenía solución salina; luego se realizó un lavado de la prótesis rozando las superficies para debilitar la placa. Todas estas muestras fueron inoculadas en placas petri con contenido de agar Sabouraud con cloranfenicol, y llevadas a la incubadora a una temperatura de 37° C por 48 horas; seleccionándose las colonias según características morfológicas y posteriormente se hizo el repique en agar Sabouraud para luego de ello proceder con la coloración Gram, prueba de tubo germinativo, producción de clamidospora y auxonograma de carbohidratos, todas esas pruebas para poder identificar el tipo de levadura; luego de ello se siguió con la prueba de difusión en pocillos para disponer de la actividad antifúngica del gel de *Satureja brevicalyx* Epling "Inca Muña". **Resultados:** Se pudo adquirir un porcentaje alto de levaduras en los portadores de prótesis total y parcial con un 78.02 %, en aquellas personas con prótesis total se visualizó *Candida albicans* en un 56.34 % y *Candida glabrata* 45.63 % y finalmente en aquellas personas portadoras de prótesis parcial removible metálica fue *Candida albicans* en un 25.35 % y *Candida glabrata* 5.63 %. Al valorar los halos de inhibición de las cepas expuestas al gel de *Satureja brevicalyx* Epling "Inca muña" se encontró diversos valores; *Candida glabrata*, 25.50 mm en prótesis total y 30.14 mm en prótesis parcial removible metálica, seguido *Candida guilliermondi* con 20.50 mm en prótesis total y *Candida no albicans* con 27 mm en prótesis parcial removible metálica. **Conclusiones:** Se concluyó que la especie *Satureja brevicalyx* Epling "Inca muña" tiene efecto antifúngico frente a cepas de *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondi* y *Candida no albicans*. (41)

### 2.2.3. Antecedentes locales

**L. Olivera, E. Gutierrez; Evaluación de la actividad antimicrobiana "in vitro" sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (q'eshua muña) (2021). (42)**

**Objetivo:** Analizar la capacidad antioxidante y la acción antimicrobiana "in vitro" del extracto etanólico 96% de hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león), así como del aceite esencial extraído de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), en relación con las siguientes cepas ATCC: 25922 *E. coli*, 27853 *Pseudomonas aeruginosa*, 90028 *Candida albicans* y 28188 *Trichopytom rubrum*. **Metodología:** El tipo de estudio es cuasiexperimental ya que se manipularon una o más variables independientes. Se evaluó las características fisicoquímicas, organolépticas,

fitoquímicas del extracto, se hizo el respectivo control microbiológico, se examinó la capacidad antioxidante utilizando el método de Brand-Williams, que se manifestó como la absorción del radical libre de DPPH y la actividad antibacteriana y antifúngica por difusión en agar disco-placa, a través del método de sensibilidad de Kirby Bauer. Igualmente, para el aceite esencial se estableció su composición química mediante cromatografía de gases, se llevaron a cabo exámenes organolépticos, fisicoquímicos, control microbiológico y se valoró la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica, utilizando la misma técnica. **Resultados:** El extracto exhibió un porcentaje de humedad del 83.76%, una eficiencia del 7.66%, una gran cantidad de alcaloides, lactonas y esteroides, la falta de flavonoides, quinonas y saponinas, y demostró una elevada actividad antioxidante in vitro con un 75.24% con una concentración de 4 mg/mL, y finalmente, no mostró actividad antibacteriana y antifúngica. Respecto al aceite esencial, se registró un 75.39% de humedad, un rendimiento del 0.25%, predominancia de pulegona y L-mentona, elevada actividad antioxidante con un 73.60% a 32 mg/mL, superior actividad antibacteriana contra la Cepa ATCC 27853 *Pseudomona aeruginosa* y destacada actividad antifúngica contra la Cepa ATCC 28188 *Trichophyton rubrum*. **Conclusiones:** El extracto etanólico del 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) muestra una elevada actividad antioxidante en estudios in vitro, aunque no muestra actividad antibacteriana o antifúngica. La esencia de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) exhibe una elevada actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica. (42)

**J. Velazque; Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del *Origanum vulgare L.* (Orégano) frente *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 (2019). (43)**

**Objetivo:** Se examinó la actividad antimicótica in vitro del esmalte de uñas mediante la aplicación del aceite esencial de *Origanum vulgare L.* "orégano" en contraposición a *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. **Metodología:** El tipo de estudio es experimental. El proceso comenzó con la obtención del aceite esencial, empleando el método de destilación por arrastre de vapor. La determinación de la composición química del aceite esencial se realizó mediante el método de cromatografía de gases acoplada a espectro de masas. Luego, se llevaron a cabo los ensayos de análisis organoléptico y fisicoquímico del aceite esencial. Posteriormente, establecieron la actividad antimicótica del aceite esencial de *Origanum vulgare* en contra de *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 a través de los procedimientos de Concentración Mínima Inhibitoria y la técnica de difusión en discos. Luego elaboraron el método para elaborar el esmalte de uñas utilizando el aceite esencial de *Origanum vulgare L.*, con el objetivo

de evaluar la actividad antimicótica frente a *Trichophyton rubrum* ATCC 28188, a través del método de difusión en discos. Por último, se analizan las propiedades fisicoquímicas, organolépticas, control microbiológico, tiempo de secado. **Resultados:** Se consiguió un rendimiento del aceite esencial del 0.82%, entre los elementos que se hallaron en mayor cantidad en el aceite esencial mediante (CG - SM) se destacaron: Terpeneol, cis-a 18.46 %, Timol 12.38 %, Ácido antranílico, Éster 1,5-dimetil-1- vinil-4-hexenílico 9.38 % y Carvacrol 0.98%. Además, los resultados obtenidos de las propiedades fisicoquímicas fueron: densidad de 0.8454 g/mL, índice de refracción de 1.3872, índice de saponificación de 0.0102, índice de acidez de 0.8265 g y rotación óptica de 0.542. Después, se evaluó la actividad antimicótica del aceite esencial de orégano mediante difusión de discos. El resultado fue una CMI del 70% que evidenció un halo de 9.75 mm en relación con *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. Posteriormente, llevaron a cabo seis formulaciones y evaluaron su actividad antimicótica. El esmalte de quitosano al 2% y aceite esencial al 70% resultó ser el que presentó el mayor halo de inhibición, 12.5 mm, con mejores propiedades organolépticas, fisicoquímicas y estudios de estabilidad. La penetración de uña mostró un halo de 11.95 mm, suavidad de fluir 14 segundos, tiempo de secado 4 minutos, en comparación con el esmalte comercial de ácido undecilénico. **Conclusiones:** El esmalte elaborado con el aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano”, que contiene quitosano del 2% y aceite esencial del 70%, demostró una mayor actividad antimicótica en comparación con *Trichophyton rubrum*. Por lo tanto, puede ser visto como un aporte natural para el tratamiento de la Onicomicosis. (43)

**L. Solís, J. Solís, L. J. Aragón, M. D. Fernández, I. Hernandez, I. Rodeiro, J. Pino, Composición química y actividad antioxidante de aceites esenciales de *Tanacetum vulgare* y *Mentha piperita* L. var. *vulgaris* cultivados en Cusco, Perú (2017). (44)**

**Objetivos:** Determinar de las hojas de *Tanacetum vulgare* L. y *Mentha piperita* L. Var. *Vulgaris*, su composición en aceites esenciales aislados, cultivados en forma silvestre a gran altitud sobre el nivel del mar y para evaluar sus actividades antioxidantes de estos aceites esenciales. **Metodología:** El estudio es de tipo experimental. Se utilizaron las hojas de *T. vulgare* y *Mentha. piperita* var. *vulgaris* recolectados en la región del Cusco. Los análisis de estos aceites se realizaron por los métodos de cromatografía de gases con detección de ionización de llama, cromatografía de gases-espectrofotometría de masas y la cuantificación se realizó por abundancia porcentual relativa y normalización con factores de respuesta de corrección por agrupación de componentes de aceites esenciales por grupo funcional. **Resultados:** El rendimiento

de extracción de *T. vulgare* fue de 0.4% y para *M. piperita var.* 0.8%. Además, fueron identificados 70 componentes en el aceite esencial de menta, siendo los principales componentes el mentol, acetato de metilo y el mentona. Por su parte en el *T. vulgare* se identificaron 50 componentes principalmente monoterpenos oxigenados de clase volátil con sus derivados la trans-tujona o b-tujona. **Conclusiones:** El aceite esencial de *T. vulgare* presenta menor actividad antioxidante que la *M. piperita var. vulgaris*, pero ambos con uso potencial en la industria alimentaria, cosmética o farmacéutica. (44)

### 2.3. Estado de la cuestión

A nivel mundial en países como Brasil, Polonia, Malasia, Argelia entre otros usan modelos predictivos para las mezclas binarias y terciarias, buscando efectos sinérgicos y optimizables para la actividad farmacológica de las plantas. (34,39,45)

La mezcla de extractos obtenidos de plantas medicinales en el Perú no es común. Además, en el Perú, se ha encontrado escasa información científica actualizada respecto a estudios sobre las capacidades antioxidantes y antifúngicas del aceite esencial de la especie *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), aunque se conoce tradicionalmente sus usos medicinales. En la región Cusco a 3000 msnm, crece como arbusto aromático con características flores blancas. Castillo, 2017 (41) en su estudio hizo la revisión de investigaciones previas sobre la composición fitoquímica, usos y el estudio farmacológico de esta especie en Lima, Perú. En el estudio de Salcedo M, 2021 (36) se encontró más datos, en estudios disponibles en internet, en revistas científicas y libros, donde se documentó su efectividad, respaldado en el uso por la medicina tradicional. Señalo además las sinonimias de su nombre, usos etnomedicinales, composición química y estudios preclínicos sobre la actividad antioxidante y antimicótica in vitro sobre cepa de *Candida albicans*.

Por otro lado, la especie *Luma chequen* (Arrayan) tiene más estudios científicos sobre su actividad antibacteriana y antifúngica, entre otros. En el Cusco cuenta con pocas referencias bibliográficas, aunque su crecimiento se da a 2400 - 3400 m.s.n.m. como un arbusto. Tradicionalmente posee múltiples propiedades. Torres J, 2017 (46) evaluó su actividad antimicrobiana aislados de hemocultivos de un centro hospitalario en extractos etanólico y acuoso en Lima, Perú. La planta presentó actividad inhibitoria frente a los patógenos, siendo los más sensibles *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Klebsiella pneumoniae*, *Candida tropicalis* y *C. parapsilosis*.

## 2.4. Bases teórico – científicas

### 2.4.1. *Satureja boliviana* (Khuñu Muña)

#### 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

**Reino:** Vegetal

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Sub Clase:** Asteridae

**Orden:** Lamiales

**Familia:** Lamiaceae

**Género:** *Satureja*

**Especie:** *Satureja boliviana*. (9)

**Sinonimia:** *Clinopodium bolivianum* Kuntze, *Clinopodium kuntzeanum* Kuntze, *Satureja brevicalyx* Epling, *Satureja kuntzeana* Briq. (36)

**Nombres comunes:** Inca muña, Muña blanca, Cjuñuca, Cjuñu muña u Orégano de los incas. (36)

FIGURA N° 1. *Satureja boliviana* (Khuñu Muña)



FUENTE: Salcedo Ríos MA, 2021

## **2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS**

La especie vegetal *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) es una especie vegetal subarborescente, perenne, tiene de 60 a 100 cm de altura promedio y hojas pequeñas aromáticas. Con abundante florecimiento después de la estación lluviosa. (9)

Tallo: de forma cuadrada, glabro. Hojas: de tamaño reducido, espatuladas, sésiles, verticales, compuestas y opuestas, con un margen completo. Flores: blancas, abundan tras la temporada de lluvia, solitarias, axilares, tetrámeras, bilabiadas; cáliz gamosépalo; corola gamopétala; androceo con estambres didínamos; gineceo con ovario súpero, estilo apical y estigma simple. Fruta: drupa oblonga, con una longitud de 1,5 mm. (36)

## **3. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITAT**

La especie es autóctona de las zonas sureñas altoandinas de Perú y Bolivia. Posee preferencia por las pendientes de terrenos areno-arcillosos y pedregosos, usualmente se ubica cercano a las carreteras y pendientes vecinas, en las proximidades de muros y piedras que forman matorrales densos. Usualmente se desarrolla en áreas que oscilan entre 2,500 y 3,500 metros sobre el nivel del mar. (9)

## **4. USOS TRADICIONALES DE LA ESPECIE**

Planta con múltiples usos y empleada por nuestros antepasados, confundida con la Muña por su similitud, siendo la Khuñu Muña superior a la Muña tanto cualitativamente, cuantitativamente y en rendimiento.

La infusión o cocimiento de su parte aérea, en particular las flores, se emplea como método medicinal contra dolores estomacales, desórdenes, acidez, meteorismo y cólicos intestinales. El macerado se aplica en el tratamiento de cefaleas, vértigo y resfriados. La decocción para erradicar los parásitos en los niños. En las mujeres, disminuye los dolores durante el ciclo menstrual. Los baños elaborados con la decocción de *Satureja boliviana* se emplean en el tratamiento de la anemia y el raquitismo en niños. Usualmente se recomienda que las mujeres la consuman como mate durante el proceso del parto. En altas dosis se considera como abortiva. Para evitar la descomposición de carnes y pescado se emplean las hojas, flores y raíces para envolverlos. También recomiendan su uso como insecticida. (9,36)

## 5. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Entre los compuestos encontrados en las partes aéreas de la Khuñu Muña se encuentran compuestos fenólicos similares a los ácidos tipo cafeico, p-cumárico, también flavanonas y flavonoles.

El aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) obtenido empleando el método de destilación por arrastre de vapor de agua presentó en su contenido: 74.8% de monoterpenos oxigenados, 16% de hidrocarburos sesquiterpénicos, 4.1% de hidrocarburos monoterpénicos y 1.5% de sesquiterpenos oxigenados. De los monoterpenos oxigenados, el 27.2% correspondió a pulegona, 20.3% linalol, 11.1% mentona, 8.3% isomentona, 2.7% cis-isopulegona, 0.9% trans-isopulegona, 0.6% carvacrol, 0.6% timol y 0.5%  $\alpha$ -terpineol. Para los hidrocarburos sesquiterpénicos tenemos al biciclogermacreno en un 8.2%,  $\beta$ -cariofileno al 6.5% y bicicloelemeno al 0.5%. En los hidrocarburos monoterpénicos se tuvo al p-cimeno en 2.0%, limoneno 0.7% y  $\gamma$ -terpineno 0.6%. Finalmente se tuvo a los sesquiterpenos oxigenados en 1.5%, se encontró también 0.8% de espatulenol. (36)

### 2.4.2. *Luma chequen* (Arrayán)

#### 1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

REINO: Vegetal

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Magnoliopsida

SUB CLASE: Rosidae

ORDEN: Myrtales

FAMILIA: Myrtaceae

GÉNERO: *Luma*

ESPECIE: *Luma chequen* (Molina) A. Gray. (47)

**Sinonimia:** *Eugenia bella phil.*, *E. chequen Feuillee ex Molina*, *E. gayana Barneoud*, *E. Myrtomimeta Diels*, *Luma gayana (Barneoud) Burret*, *Myrceugenella chequen (Feuillee ex Molina) Spreng.* (48)

**Nombres comunes:** Mirto, Arrayán, Arrayana, wallpuma, rayán castilla y luma. (48)

FIGURA N° 2. *Luma chequen* (Arrayán)



FUENTE: Farfan Salas Y, Santos Valer R. Quiquijana, 2016

## **2. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS**

La especie vegetal *Luma chequen* (Arrayán) es una planta arborescente de entre 5 a 6m de longitud, con follaje denso y verde. (48)

Tallo: Alto, leñoso, ramificado desde su base. La corteza externa tiene una textura llana, de tonalidad marrón claro. El interior de la corteza es blanco, con un aroma suave y placentero. Hojas: Sencilas, circulares y decusadas. Sin condiciones específicas, los peciolos son cortos, con un limbo curvado y coriáceo, con un ápice pronunciado. Flores: axilares, hermafroditas, actinomorfas y tetrámeras; con múltiples estambres y libres, todas ellas de tonalidad blanca. Fruto: Bayas con formas esféricas y de un tono negro violáceo. (48)

## **3. UBICACIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITAT**

La especie habita en la Cordillera de los Andes, en la región central de Sudamérica, entre Perú, Bolivia y Chile. Su población se beneficia de zonas de elevada humedad, junto a los ríos. Su altitud puede oscilar entre 2400 y 3400 metros sobre el nivel de mar. (48)

## **4. USOS TRADICIONALES DE LA ESPECIE**

La especie *Luma chequen* (Arrayán) es usado de forma medicinal y costumbrista desde tiempos ancestrales. La infusión y decocción de las partes aéreas se consume oralmente para tratar la tos, la indigestión, las diarreas, las afecciones pulmonares y bronquiales, es expectorante y astringente, y se emplea como antiinflamatorio, antimicótico y antiséptico. Los baños con las ramas se usan en caso de “mal de aire”

y después del parto. Además, para conservar a sus muertos se usa el agua de sus hojas y ramas. (49)

## 5. COMPOSICIÓN QUÍMICA

Entre los compuestos encontrados en las partes aéreas de *Luma chequen* (Arrayán) se encontró Flavononas, compuestos fenólicos, taninos, catequinas, leucoanocianidinas, aceites esenciales, ácidos (cítrico, tánico y málico), esteroides y triterpenos. (49)

El aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) obtenido mediante el método de destilación por arrastre de vapor de agua estuvo compuesto en su mayoría por monoterpenos con 90,1%, entre ellos 57.1% de  $\alpha$  - pineno, 12,1% de 1,8-cineol y 5,5% de linalol, 11,73% de eucaliptol y 8.56% de limoneno, sesquiterpenos sólo 3,1% y flavonoides (quercetina y rutina) 2.5%. (49) Otros estudios reportaron hidrocarburos monoterpénicos (68,8%), entre sus principales componentes destaca el  $\alpha$  -pineno en 57,3% y  $\beta$ -pineno en 6,2%; mientras que la fracción de monoterpenos oxigenados fue de 18,9%, siendo 52\*7el 1.8-cineol en 7.5%, linalol en 3.7% y trans-verbenol en 2.2%. La fracción sesquiterpénica fue de 3%, con el  $\beta$ - selineno en 1,3% y óxido de b-cariofileno (0,9%). (50)

### 2.4.3. Aceites esenciales

Llamados también esencias, es una mezcla múltiple de sustancias aromáticas responsable de los aromas de las flores. En el medio ambiente, juegan un rol crucial en el mecanismo de defensa de las plantas ante bacterias, virus y hongos patógenos, además de prevenir el ataque de plagas de insectos. Presentan acciones farmacológicas, además de ser usadas en cosmética, alimentaria y perfumería, constituyendo la base de la aromaterapia. Los aceites esenciales representan entre el 0.1 y el 1% del peso seco de la planta, se caracterizan por su limitada solubilidad en agua, aunque pueden ser solubles en alcohol y disolventes orgánicos. A temperatura ambiente su color es inalterable y se vuelven amarillos cuando se oxidan. (51)

#### 2.4.3.1. Distribución y estado natural

La variedad de aceites esenciales es extensa, están presentes en coníferas como el pino y el abeto, mirtáceas como el eucaliptus, rutáceas como el citrus, labiales como la menta y compuestas como la manzanilla. Se pueden hallar en diversas áreas de la planta: en las hojas (como el eucalipto, hierbabuena, menta, entre otros), en las raíces (como angélica, cúrcuma, jengibre, valeriana, vetiver,

entre otros), en el pericarpio del fruto (como los cítricos), en las semillas (como el anís, hinojo, comino, etc.), en la corteza la canela, en el leño el alcanfor, y en las flores (lavanda, tomillo, rosa, jazmín, etc.) y en los frutos (nuez moscada). Factores como el método de extracción, las condiciones geográficas, el tipo de suelo, el material vegetal y la etapa de cosecha, influyen bastante en la cantidad de componentes químicos que se encuentran en los aceites esenciales, provocan también variaciones en la calidad y el rendimiento de los aceites esenciales. (52)

#### 2.4.3.2. Clasificación de aceites esenciales

Los aceites esenciales se clasifican según varios criterios, como su consistencia, origen y naturaleza química de los componentes principales. (53)

##### Clasificación por consistencia

- **Esencias fluidas:** A temperatura ambiente, líquidos volátiles.
- **Bálsamos:** extractos naturales derivados de un arbusto o árbol con textura más espesa, poca volatilidad y susceptibles a reacciones de polimerización, como el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, entre otros.
- **Resinas:** sustancias amorfas sólidas o semisólidas con una complejidad química. Podrían provenir de una causa fisiológica o fisiopatológica.
- **Oleorresinas:** con un aroma intenso y generalmente líquidos extremadamente viscosos o sustancias semisólidas (como el caucho, el chicle, la oleorresina de páprika, de pimienta negra, de clavo, entre otros). (53)

##### Clasificación por origen

- **Naturales:** se extraen desde la materia vegetal y no requieren alteraciones físicas o químicas más adelante, son altamente costosos a raíz de su bajo rendimiento.
- **Artificiales:** se producen mediante mecanismos de potenciación de la misma esencia con uno o más de sus elementos, entre ellos se observa la combinación de esencias de rosa, geranio, jazmín enriquecidas con linalol.
- **Sintéticos:** generados por la mezcla de sus elementos, generalmente se obtienen mediante procesos de síntesis química. Estos aceites son más accesibles y se emplean como aditivos y saborizantes. (53)

### **Clasificación por naturaleza química**

De acuerdo con los componentes mayoritarios.

- Monoterpenoide (Hierbabuena, albahaca, salvia, etc.).
- Sesquiterpenoide (Copaiba, pino, junípero, etc.)
- Fenilpropanoides (Clavo, canela, anís, etc.) (53)

#### **2.4.3.3. Composición química de aceites esenciales**

Viendo sus dominios fisicoquímicos, por lo general se caracterizan, por ser de carácter apolar, líquidos a T° ambiente, en algunos casos se pueden endurecer a bajas temperaturas (como por ejemplo se tiene la esencia de anís), los cuales pueden ser transparentes, incoloros o de color amarillo, con menor densidad que el agua. Su naturaleza apolar los convierte en solubles en disolventes orgánicos, alcohol y aceites de origen fijo. Por otro lado, son casi insolubles en agua, aunque si poseen ciertos componentes más polares (fenoles, etc.) al ser calentados, pueden ser parcialmente solubles, transmitiendo su aroma y gusto. Dada su naturaleza química, pueden categorizarse como moléculas terpénicas y no terpénicas. En el caso de las terpénicas, predominan los monoterpenos y sesquiterpenos, y en una concentración inferior se encuentran los diterpenos, que pueden ser lineales, cíclicos o aromáticos con uno o varios anillos en su estructura; estos pueden presentarse en forma de hidrocarburo u oxigenado. Según su funcionalización los compuestos oxigenados, se pueden diferenciar entre monoterpenos ( $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno, limoneno, mirceno, p-cimeno, etc.), alcoholes (terpénicos y no terpénicos, según su origen y estructura), fenoles (eugenol, timol, carvacrol, etc.), aldehídos (cinamaldehído, aldehído cumínico, perilaldehído, etc.), cetonas (mentonas, pulegona, piperitona, etc.), éteres (1,8-cineol, mentofurano, etc.) o ésteres (Acetato o propionato de linalilo, citronelol acetato, etc.), entre otros. Si se trata de los moléculas no terpénicas, es posible considerar moléculas de diferente naturaleza: a) sustancias alifáticas de cadena corta (hidrocarburos, alcoholes, aldehídos, etc.), como el 3-hexenol que aporta un tono verde al aceite esencial (olor a césped recién cortado), o el 2-hexenol, que aporta una nota afrutada (aroma de frambuesa); b) sustancias con núcleo aromático de peso molecular bajo, principalmente derivadas de C6-C1 (como la vainillina) y C6-C3 (fenilpropanoides, como el eugenol o el trans-anetol, y cumarinas, como el bergapteno), y c) sustancias con azufre, tales como isotiocianatos y sulfuros que proceden de la conjugación de otras sustancias que no son volátiles (mostaza y ajo). (52,54)

#### 2.4.4. Extracción de aceites esenciales

La extracción de los aceites esenciales se realiza mediante diferentes procesos, según la calidad del aceite a extraer y de la estabilidad de sus componentes; en su mayoría éstos son termolábiles. Se pueden clasificar en dos categorías: los métodos clásicos (o convencionales) y los innovadores (o avanzados), como: hidrodestilación, arrastre por vapor de agua, extracción con solventes orgánicos, con fluidos supercríticos, extracción asistida por ultrasonidos. (55)

- **Hidrodestilación**, las partes de las plantas (en particular, las flores y los pétalos) se hierven directamente dentro del agua; el aceite esencial extraído se arrastra junto con el vapor de agua hacia un refrigerante, un decantador recoge el agua condensada, separando el aceite del agua. (55)
- **Arrastre por vapor de agua**, tiene el mismo principio que la hidrodestilación, pero la planta no está en contacto con el agua. Existen varias variantes de este método, como la hidrodestilación por vapor, la destilación al vapor y la hidro difusión. (55)
- **Extracción con disolventes orgánicos**, las partes de la planta se colocan dentro de un disolvente orgánico y se maceran. Estos disolventes penetran el material vegetal y disuelven las sustancias. El disolvente se elimina a presión para concentrar el extracto. (55)
- **Extracción con fluidos supercríticos**, el solvente usado es generalmente CO<sub>2</sub>, el cual es comprimido y calentado para alcanzar el estado supercrítico; al pasar a través de las partes de la planta, el CO<sub>2</sub> supercrítico es cargado por componentes volátiles y extractos; al final, la fase de depresión permite la separación del aceite. (55)
- **Extracción asistida por ultrasonidos**, el vegetal es sumergido en agua u otro solvente: la acción de los ultrasonidos favorece la liberación de aceites esenciales de la planta, debido a la vibración mecánica de las paredes celulares y membranas. (55)

#### 2.4.5. Destilación por arrastre de vapor

La destilación de vapor por arrastre se emplea frecuentemente como técnica para extraer aceites esenciales. Este procedimiento de separación se lleva a cabo a través del vaporeo de sustancias volátiles e inmiscibles en agua de la especia vegetal. Se trata de conducir un flujo de vapor a temperaturas que sean inferiores a las de ebullición de cada uno de los elementos volátiles, a través de la materia prima, logrando que transporte consigo los aceites esenciales. Posteriormente, estos

vapores se condensan en un refrigerante donde experimentan una fase de enfriamiento y condensación, generando un líquido destilado que se compone de dos fases miscibles: una orgánica que constituye el aceite esencial y otra acuosa. Este destilado se separa por decantación por la diferencia de densidades que existe entre ambas. (56)

El efecto de la destilación es que el vapor mediante su acción térmica, fisicoquímica incluso química (sobre todo el vapor húmedo) hincha las paredes de los tejidos facilitando por medio de la osmosis el paso de la esencia al exterior. Una vez que se ha aislado la esencia, esta se destila a temperaturas considerablemente inferiores a su punto de ebullición, lo que tiene un impacto positivo en la cantidad de agua que se encuentra presente. (56)

#### **2.4.6. *Malassezia furfur***

La virulencia de las levaduras del género *Malassezia* spp. depende de su propiedad lipofílica. Estas levaduras se encuentran como parte del microbiota comensal normal de la piel en zonas con gran cantidad de glándulas sebáceas, a pesar de que pueden transformarse en patógenos oportunistas en función de determinados factores endógenos o exógenos, causando diversas formas de dermatosis como: pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica, algunas variantes de foliculitis, psoriasis, dermatitis atópica, eritema anular centrífugo, blefaritis seborreica marginal y dermatitis seborreica en animales, usualmente en perros. (5)

##### **1. Historia y clasificación taxonómica**

En 1846, Eichstedt identifica la pitiriasis versicolor como una enfermedad fúngica, al examinar su estructura de levadura con filamentos. Robin lo denomina *Microsporium furfur* en 1853. En 1874, Malassez identificó células brotantes de forma redonda, dando a entender que el microorganismo era de forma levaduriforme. Luego, en 1889, Baillon categorizó el género *Malassezia* en homenaje a Malassez, asignándole la especie tipo a *Malassezia furfur* (*M. furfur*). En 1904, Sabouraud identifica dos morfologías, estableciendo el género *Pityrosporum* para la forma levaduriforme y manteniendo el nombre de *M. furfur* para la forma micelial. En 1913, Castellani y Chalmers subrayan la importancia de componentes grasos en el medio de cultivo. Además, con el paso del tiempo se notó que este hongo presenta una morfología inestable, dependiendo del medio, podría producirse una transición entre la forma levadura (ovalada o redondeada) y micelial. Por esta razón, desde 1986 se adopta el

nombre de *Malassezia* para todas las manifestaciones que se registren de este hongo, dejando fuera el término *Pityrosporum*. (57)

REINO: Fungi

FILO: Basidiomycota

SUBFILO: Ustilaginomycotina

CLASE: Malasseziomycetes

ORDEN: Malasseziales

FAMILIA: Malasseziaceae

GÉNERO: *Malassezia*

ESPECIE: *M. furfur*. (58)

FIGURA N° 3. *M. Furfur* en medio de Dixon modificado a 32°C



FUENTE: Arenas O, Micología Medica Ilustrada, 2014

## 2. Características morfológicas

Al ser lípido-dependiente requieren de medios de cultivos especiales para su aislamiento, como el medio de Dixon o Sabouraud dextrosa modificado con aceite de oliva. Tras 7 días de incubación en estos agares, las colonias adquieren un tono amarillo o blanquecino, son opacas, suaves, umbilicadas o levemente juntas, y con una altura aproximada de 5mm. La dimensión y el diseño de las células varían: incluyen células ovales, cilíndricas (1.5  $\mu\text{m}$ . 3  $\mu\text{x}$  2,5  $\mu\text{m}$ -8  $\mu\text{m}$ ) o esféricas (2.5  $\mu\text{m}$ -5

µm). Los brotes germinativos se establecen en una base amplia. Es capaz de generar filamentos en cualquier punta de la superficie de la célula. Es positiva tanto catalasa como ureasa. La existencia de aceites como la oliva, girasol, maíz o de los Tweens 20, 40, 60 y 80 en porcentajes de 0,1, 0,5, 5 y 10, promueve su crecimiento. Para un aislamiento óptimo, la temperatura ideal de incubación es de 32 °C, con un intervalo de 31 a 35 °C. (5,59) Es sensible in vitro a los azólicos de baja concentración, destacando al ketoconazol como el inhibidor más eficaz, y seguido por el itraconazol. (57,58)

#### **2.4.7. Medios de cultivo para aislamiento**

El cultivo para levaduras es un procedimiento de diagnóstico específico, que permite tipificar con certeza el género y la especie causal, de la micosis causada por hongos levaduriforme. El diagnóstico se basa fundamentalmente en criterios morfológicos, macro y microscópicos. (60)

##### **Medio de Dixon modificado**

Este medio es utilizado para el cultivo y aislamiento de especies *Malassezia*, es adecuado para levaduras y mohos ya que presenta una elevada concentración de maltosa y otros sacáridos que actúan como fuentes de energía. La peptona de caseína suministra nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos necesarios para el crecimiento. El extracto de malta proporciona carbono, proteínas y nutrientes esenciales para el crecimiento. La adición de bilis de buey inhibe el crecimiento de organismos Grampositivos. El ácido oleico y tween 40 actúan como fuentes de lípidos. La cicloheximida es un antibiótico que inhibe el crecimiento de hongos saprofitos, pero permite el crecimiento de los hongos patógenos, por ello es de alto costo. Incubado a 32 °C durante 7 días, las colonias son de color crema a amarillento, lisas o ligeramente arrugadas, brillantes u opacas, y con un margen entero o lobulado. (60)

##### **Medio de Sabouraud dextrosa modificado**

Es un medio comúnmente empleado para el aislamiento de levaduras lipofílicas, como *Malassezia furfur*. La alta concentración de dextrosa y la acidez del pH hacen a éste un medio selectivo para hongos. Modificado con la suplementación de ácidos grasos de cadena larga (aceite de oliva 2ml), incubado entre 25 °C a 30 °C por 3 a 15 días como máximo, se desarrollan colonias de consistencia cremosa lisas o rugosas, las levaduras suelen ser completas, abombadas o planas. (60)

#### **2.4.8. Pitiriasis versicolor**

La pitiriasis versicolor es una micosis superficial ocasionada por diversas especies de *Malassezia spp.*, generalmente frecuente en países tropicales y subtropicales, donde existen las condiciones favorables para la invasión y crecimiento del hongo tales como humedad y temperaturas altas. La pitiriasis versicolor, causa daños en el estrato corneo mediante la penetración del tejido, se caracteriza por la presencia de máculas o placas ovales discrómicas, con una fina descamación superficial hipopigmentada (blanquecinas) e hiperpigmentadas (rosa, beige, marrón a negro) las cuales pueden confluir formando placas policíclicas de un mayor tamaño los cuales afectan generalmente las áreas seboreicas como cuello, tórax anterior y el dorso. (61)

#### **2.4.9. Dermatitis seborreica**

La dermatitis seborreica se caracteriza por ser una enfermedad superficial cutánea la cual causa inflamación y es bastante común. Se presenta formando eritemato-escamosas de color blanco amarillento en zonas seboreicas del cuerpo como cuero cabelludo, pliegues nasolabiales, cejas, detrás de las orejas y tórax anterior. Está clasificada como una enfermedad crónica la cual no tiene cura, pero puede ser controlada mediante tratamiento. Se tiene identificado diferentes factores, pero sus causas son inciertas, pero según varios estudios indican que la *Malassezia* juega un rol importante en esta enfermedad. Esta enfermedad representa del 1 al 6% de las consultas dermatológicas, siendo los hombres más afectados que las mujeres en los diversos grupos de edad, siendo en pacientes inmunocomprometidos más notable. (62)

#### **2.4.10. Prueba de sensibilidad**

##### **2.4.10.1. Método de difusión en agar**

Es uno de los métodos más comunes para determinar la sensibilidad de un microorganismo. Se basa en la colocación de discos que cuentan con la muestra antifúngica o muestra vegetal, en placas con agar que contienen cepas de la especie en estudio previamente sembradas. Estos discos permiten la difusión del antifúngico por el agar, que al pasar los días de incubación indicaran la inhibición del crecimiento del microorganismo. Los diámetros alrededor de cada disco se miden y su interpretación se basa en guías publicadas cada cierto tiempo, por la NCCLS (National

Committee for Clinical Laboratory Standards), el microorganismo se reporta como sensible, intermedio o resistente al antifúngico testado. (63)

#### **2.4.11. Antioxidante**

Las sustancias antioxidantes tienen la capacidad de atrasar la oxidación de otras moléculas. La oxidación es un proceso químico en el que los electrones de una sustancia son transferidos a un agente oxidante. La oxidación es causada principalmente por las reacciones de radicales libres, que dañan las células. Los antioxidantes detienen estas reacciones eliminando los mediadores de radicales libres e inhibiendo otras reacciones oxidativas por oxidación. Los antioxidantes son compuestos químicos con la capacidad de reaccionar con radicales libres, de esta forma reducir los efectos degenerativos al organismo. (64)

#### **2.4.12. Clasificación de los antioxidantes**

##### **2.4.12.1. Por su naturaleza**

- Antioxidantes naturales, están presentes de manera natural en los alimentos principalmente vegetales, tales como vitaminas (A, C y E), minerales (Selenio, Zinc y Cobre) y compuestos fotoquímicos (polifenoles, flavonoides).
- Antioxidantes sintéticos, producidos por síntesis química (64)

##### **2.4.12.2. Por su solubilidad**

- Hidrofílicos, interactúan con oxidantes en el citoplasma de la célula y el plasma de la sangre. (carotenos, Vit A, ácido ascórbico)
- Hidrofóbicos, las membranas celulares se resguardan frente a la peroxidación de lípidos. (tocoferoles, Vit E). (64)

#### **2.4.13. Radicales libres**

Son moléculas o fragmentos que se distinguen por poseer uno a más electrones desapareados en su orbital externo, por lo cual se tornan altamente reactivos e inestables. En el ser humano existen varios sistemas de defensa antioxidante los cuales intentan impedir la acción nociva de estos radicales libres, pero cuando estos sistemas fallan o son insuficientes para protegerlo del efecto letal de los radicales libres, se produce el estrés oxidativo vinculado a diversas patologías como deficiencias nutricionales, enfermedades autoinmunes, Parkinson, infartos de

miocardio, neurodegeneración, envejecimiento, neoplasias, aterosclerosis y diabetes. (65)

## **2.4.14.Capacidad Antioxidante**

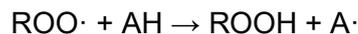
La capacidad antioxidante se refiere a la habilidad de una sustancia o compuesto químico para neutralizar especies reactivas de oxígeno (ROS) o radicales libres, que son moléculas inestables generadas en procesos metabólicos normales o por exposiciones externas como contaminación, radiación UV, tabaco o inflamación. La acumulación de estas especies reactivas puede causar estrés oxidativo, el cual daña componentes celulares como lípidos, proteínas y ADN, contribuyendo al envejecimiento y a enfermedades crónicas. (66)

### **2.4.14.1. Mecanismo de acción de los antioxidantes**

Los antioxidantes actúan mediante varios mecanismos complementarios para evitar o reducir el daño oxidativo:

#### **1. Captura de radicales libres (scavenging)**

Los antioxidantes donan un electrón o un átomo de hidrógeno a los radicales libres, estabilizándolos y deteniendo reacciones en cadena que afectan estructuras celulares:



(AH = antioxidante, A· = radical antioxidante poco reactivo). (67)

#### **2. Quelación de metales de transición**

Metales como Fe<sup>2+</sup> o Cu<sup>2+</sup> catalizan la formación de radicales altamente tóxicos a través de reacciones tipo Fenton. Algunos antioxidantes, especialmente los polifenoles, secuestran o quelan estos metales, inhibiendo la formación de Especies Reactivas de Oxígeno. (68)

#### **3. Interrupción de reacciones en cadena**

Los antioxidantes interrumpen procesos de peroxidación lipídica, donde los radicales dañan las membranas celulares, al detener la propagación de nuevos radicales. (69)

#### **4. Regeneración de antioxidantes oxidados**

Ciertos compuestos, como la vitamina C, pueden regenerar la forma activa de antioxidantes lipofílicos como la vitamina E, extendiendo su acción protectora. (70)

## **5. Estimulación de defensas antioxidantes endógenas**

Algunos antioxidantes naturales activan el factor de transcripción Nrf2, lo que incrementa la expresión de enzimas antioxidantes como el glutatión peroxidasa (GPx), superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT). (71)

### **2.4.15. Actividad antioxidante**

Los principales compuestos responsables de la actividad antioxidante son los compuestos fenólicos. Los mecanismos de acción y sus particularidades para que éstos presenten actividad antioxidante son múltiples. Cada fenol actúa por uno o más mecanismos según sus propiedades. Esta explicación de sus reacciones químicas tan solo es conocido de algunos grupos fenólicos como son los siguientes:

- Previene el inicio de la cadena de respuestas de oxidación mediante una conjugación con los radicales iniciadores como lo es el radical hidroxilo. Ejemplos de esto son los ácidos y alcoholes fenólicos como ácido cafeico.
- Descompone los peróxidos transformándolos en especies no radicales, como en caso de los alcoholes.
- Actúan como capturadores de radicales libres. Cada fenol presenta distintas especificidades por las especies oxidantes.
- Actúan como secuestradores de iones de metales de transición, ya que, al momento de juntarse con ellos, disminuyen su capacidad de generar radicales libres.
- Debido a su resolubilidad pueden encontrarse en contacto con las estructuras celulares, biomoléculas, entre otros, disminuyendo de este modo el consumo de antioxidantes propios de éstas, como lo son la vitamina E o los carotenoides, incluso reviviendo estos antioxidantes una vez oxidados.
- Capaz de inducir, inhibir, activar o proteger algunas enzimas en el organismo, presentando alta especificidad. Un ejemplo de ello es el hidroxitiroso, la luteolina y apigenina, inhibiendo la producción de inductores de la agregación plaquetaria mediante la disminución de la enzima -lipooxigenasa y araquidonato deshidrogenasa.
- Existen también numerosas publicaciones donde nos habla sobre la importancia de los flavonoides en los procesos oxidativos. Los flavonoides están formados por 3 anillos, cada uno de los cuales presentan grados de

hidroxilación y metilación diferentes, pudiendo aparecer como glucósidos o agliconas. Actúan mediante la donación de hidrógeno y la quelación de iones metálicos iniciadores de la formación de radicales lipídicos. (72)

#### **2.4.16. Métodos de evaluación de la actividad antioxidante**

Para el desarrollo de dicha investigación de la evaluación de la actividad antioxidante, se tuvo que demostrar dicha capacidad y posterior a ello se intentó ejercer una similitud más real de este efecto potencial que podría ejercer in vitro un aceite esencial rico en compuestos antioxidantes. Se realizó una medición de la actividad antioxidante para obtener datos significativos acerca de los procesos de sinergia que surgen a raíz de la interacción entre las diferentes moléculas bioactivas presentes en la muestra estudiada. Normalmente, se observa que la actividad total de los antioxidantes supera a la correspondiente de la sinergia de las acciones de los antioxidantes individuales, aunque a veces también se perciben inhibiciones. Sin embargo, también hay dificultades para tratar la presencia de un mayor número de métodos que inicialmente se utilizan para evaluar la capacidad antioxidante de un compuesto, dado que resulta complicado seleccionar un método idóneo y entender los resultados obtenidos. Por tanto, se sugiere que la evaluación de la efectividad de antioxidantes se debe abordar de distintas maneras. (72)

Los métodos más utilizados para evaluar la capacidad antioxidante son los siguientes:

##### **2.4.16.1. Método del DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL)**

La base de este método radica en la aceptación de un electrón de hidrógeno por parte de la molécula 1,1-difenil-2-picrilhidrazina, que cuando entra en contacto con metanol es de color violeta intenso. Para ello, es necesario utilizar un espectrofotómetro. Mediante una longitud de onda de 517nm, se mide la absorbancia del electrón captado. En este proceso, la solución DPPH interactúa con un sustrato antioxidante donando un átomo de hidrógeno. El color violeta inicial se transforma en uno amarillo, lo que señala la presencia de propiedades antioxidantes en la muestra en estudio. (73)

##### **2.4.16.2. Método del ABTS**

Método que fue propuesto en el año 1993 por Miller N.J. El ABTS presenta un color verde – azul, el cual es químicamente generado por una interacción con el persulfato potásico antes de la reacción con el antioxidante. Se necesita una longitud de onda

de 734 nm para medir la capacidad antioxidante de los compuestos, ya que estos interactúan directamente con el catión radical, lo que provoca una reducción del color. Este radical muestra solubilidad en medios polares y apolares, que no se ve afectado por la fuerza iónica, y tiene la habilidad de evaluar los antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos presentes en los extractos vegetales. Este ensayo usualmente se aplica a compuestos coloreados, como los antocianos, para minimizar las interferencias de estos compuestos. (73)

#### **2.4.17.Escala McFarland**

Los patrones de esta escala de McFarland se usan frecuentemente como patrones de turbidez en la preparación de suspensiones de microorganismos, generalmente usado para pruebas de sensibilidad. Consta de una serie de tubos estandarizados donde se aprecia una suspensión compuesta por el precipitado de sulfato de bario que se forma al mezclar Ácido sulfúrico a una solución acuosa de cloruro de bario. (74)

#### **2.4.18.Antifúngicos**

Los antifúngicos son cualquier compuesto capaz de modificar las estructuras de una célula fúngica, consiguiendo detener su desarrollo, alterando su viabilidad o habilidad de supervivencia, de forma directa o indirecta, lo que potencia el funcionamiento de los sistemas de defensa del organismo anfitrión. (75)

#### **2.4.19.Mecanismos de acción**

Los antifúngicos tienen la capacidad de actuar a diversos niveles sobre la célula del hongo:

- **Interactuando en la pared celular**, impidiendo su síntesis (lipopéptidos)  
La pared celular de los hongos, es esencial para su supervivencia y patogenicidad. Actúa como escudo protector, proporcionando la forma celular, favoreciendo el intercambio de iones, el paso de proteínas y colabora en procesos metabólicos y catabólicos de nutrientes complejos. La pared celular de los hongos se compone de un conjunto de proteínas y polisacáridos, los cuales varían en función de la especie fúngica. La disposición de estos compuestos en la matriz está vinculada con la función de la pared celular, así como con los procesos de ósmosis y lisis celular. Estos antifúngicos inhiben la producción de glucanos mediante la inactivación de la enzima sintetasa 1,3-beta-glucano. La ausencia de glucanos en la pared de la célula la deteriora y no puede resistir el estrés osmótico, causando su muerte. (75)

- **Interactuando en la membrana**, modificando su permeabilidad, inhibiendo su síntesis, o la de componentes clave como el ergosterol, causando la interrupción del crecimiento del hongo o su muerte. Polienos, azoles, alilaminas. (75)

El ergosterol es un elemento lipídico de la membrana que proporciona fluidez e integridad, facilita el funcionamiento adecuado de numerosas enzimas vinculadas a ella y, al promover la función de la quitina sintetasa, facilita el crecimiento y la división celular. (75)

- **Interactuando en núcleo**, sobre los mecanismos implicados en la división celular o impidiendo la síntesis de proteínas de la célula fúngica. Pirimidinas fluoradas. (75)

#### **2.4.20. Actividad antifúngica**

Para tener propiedades antisépticas, antimicrobianas y antifúngicas, los aceites esenciales dependerán de sus propiedades lipofílicas o hidrofílicas. Los terpenoides al ser compuestos liposolubles influyen en la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de membrana, actuando como des acopladores que interfieren en la translocación de protones sobre la membrana, lo que conduce a la interrupción por la fosforilación del ADP. Esta actividad biológica se vera de mayor a menor en fenoles, aldehídos, cetonas, alcoholes y éteres. Se presume que su actividad biológica no depende de la cantidad de monoterpenos, sino de la proporción en la que se encuentran. (76)

Dentro de los compuestos responsables de la actividad antifúngica están los compuestos fenólicos como el timol y carvacrol, que producen la inhibición de la biosíntesis de ergosterol y provoca alteraciones en la integridad de la membrana en este caso de la levadura, incrementando la permeabilidad y provocando la salida de proteínas, entre ellas ATP. (77)

La presencia de monoterpenos como pulegona, mentona y limoneno también proveen de actividad antifúngica a los aceites esenciales. (78)

## **2.4.21.Descripción de los Fármacos usados como Patrones Comparativos en el presente Estudio**

### **2.4.21.1. Fluconazol**

El fluconazol es un triazol, una molécula polar y simétrica, lo cual potencia su solubilidad en agua. Es adecuado para su administración endovenoso y oral, además de poseer una toxicidad reducida. Tiene una gran biodisponibilidad y se infiltra con facilidad en los fluidos del cuerpo. Los niveles de fluconazol en la saliva y el esputo se asemejan a los niveles plasmáticos. La semivida de la eliminación de plasmática es de alrededor de 30 horas. Su eliminación se realiza principalmente por medio de los riñones, el 80% de la dosis se encuentra en la orina sin alteraciones y el 10% en las heces. El aclaramiento de fluconazol es proporcional al aclaramiento de creatinina. (75,79)

### **2.4.21.2. Terbinafina**

La terbinafina es una alilamina de amplio espectro que actúa contra agentes patógenos fúngicos. Su acción se basa en la inhibición de la enzima escualeno epoxidasa en la membrana celular micótica, modificando la producción de esteroides, causando un déficit de colesterol y acumulando escualeno dentro de la célula, provocando la muerte celular micótica. Según las especies, la acción contra las levaduras puede ser fungicida (*Pityrosporum orbiculare* o *Malassezia furfur*) o fungistática. (75)

Se puede administrar por vía oral o tópica. Administrado por vía oral, el fármaco alcanza concentraciones en la piel, el cabello y las uñas que se asocian con su acción fungicida. Presenta alta afinidad por las proteínas plasmáticas en un 99 %, y se difunde rápidamente a través de la dermis, acumulándose en el estrato córneo lipofílico. La vida media de eliminación es de 17 horas. El 70% de la terbinafina se elimina en la orina en forma de los metabolitos sin actividad. Es preciso ajustar la dosis en pacientes con patología hepática o renal. Cuando se aplica tópicamente penetra en la piel y las mucosas. (79)

### **2.4.22.Blend**

El Blend es una mezcla base versátil y fundamental en la industria química. El término Blend se refiere a una mezcla sinérgica de dos o más compuestos, generalmente naturales o bioactivos, que se combinan con el fin de potenciar sus propiedades

funcionales o terapéuticas. En el ámbito de la farmacognosia, la cosmética natural y la medicina alternativa, los blends se utilizan para lograr efectos complementarios o sinérgicos mediante la interacción de sus principios activos. (80)

En el caso de los aceites esenciales, un blend puede aumentar la eficacia biológica frente a microorganismos, como hongos del género *Malassezia*, o mejorar la capacidad antioxidante frente a especies reactivas de oxígeno. (81,82)

### **Beneficios de un Blend de aceites esenciales**

- Sinergia terapéutica: la combinación puede resultar más potente que sus componentes individuales.
- Ampliación del espectro de acción: útil contra diferentes cepas o mecanismos biológicos.
- Reducción de toxicidad: permite usar menores concentraciones individuales.
- Mejora de estabilidad: algunos compuestos protegen a otros de la oxidación o degradación. (17)

### **2.4.23. Formulación**

La formulación es el proceso de combinación de diferentes sustancias en proporciones precisas para la elaboración de un producto específico. Estas sustancias serán de origen sintético o natural. (84)

Las formulaciones farmacéuticas son mezclas de componentes (principio activo y excipientes). El mezclado es una operación farmacéutica, con el objetivo de conseguir la máxima interposición entre sus componentes y la distribución homogénea entre ellos. La función de la mezcla puede ser una propiedad de la mezcla, o estar definida por la composición de la misma. Si la cantidad total de la mezcla se mantiene constante y la respuesta experimental cambia cuando se modifica la proporción relativa de sus componentes, el comportamiento de la respuesta se define como una función conjunta característica de los componentes en la mezcla. (85)

#### **Mezcla homogénea**

También se les denomina disoluciones. Poseen un aspecto uniforme, sus componentes no se pueden diferenciar a simple vista. Este tipo de mezclas cuentan con una única fase. (86)

#### **Mezcla heterogénea**

Poseen una estructura no uniforme, sus componentes pueden ser reconocidos a simple vista. Están formadas por dos o más fases. (86)

#### 2.4.24. Cromatografía

La cromatografía es un procedimiento físico de separación utilizado para caracterizar mezclas complejas, que se utiliza en todas las disciplinas científicas. Se trata de una serie de métodos fundamentados en el principio de retención selectiva, cuyo propósito es separar los diferentes elementos de una mezcla, facilitando la identificación y determinación de las cantidades de estos elementos. (87)

Los criterios empleados para la clasificación son diversos, siendo los más comunes aquellos relacionados con:

- **Según el técnica empleada o tipo de soporte físico sobre el cual se desarrolla.** La característica del medio físico donde se realiza el análisis cromatográfico establece la metodología general. La fase estacionaria puede estar ubicada en una superficie lisa, o puede estar ubicada dentro de un tubo cilíndrico de vidrio o de acero de alta calidad. (87)
- **Según el estado físico de la fase móvil.** La fase móvil puede estar compuesta por un gas, un líquido o un fluido "de alta presión". Un fluido supercrítico es un material que se encuentra expuesto a presión y se calienta hasta alcanzar una temperatura que supera su temperatura crítica. Posee ciertas características propias de un gas y otras parecidas a las de un líquido. De acuerdo con este criterio, se clasifican las distintas técnicas de cromatografía en:
  - Cromatografía de gases.
  - Cromatografía líquida.
  - Cromatografía supercrítica. (87)
- **Según el estado físico de ambas fases y el mecanismo que rige la separación.**

Las técnicas de cromatografía pueden categorizarse de la siguiente forma considerando, primero, la condición física de la fase móvil:

- Cromatografía Líquido-Sólido (LSC de Liquid - Solid Chromatography).
- Cromatografía Líquido- Líquido (LLC de Liquid - Liquid Chromatography).
- Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC de High Performance Liquid Chromatography).

- Cromatografía de gases. Se subdivide en: cromatografía gas – líquido (GLC: Gas Liquid Chromatography) y cromatografía gas – sólido (GSC: Gas - Solid Chromatography). (87)

#### **2.4.25. Cromatografía de gases**

La cromatografía de gases es un método analítico frecuente empleado para la separación y análisis de compuestos volátiles y semivolátiles de una mezcla. Este método se emplea al fusionar un potencial de resolución excepcional con rapidez y precisión. Tiene una amplia aplicación en diversas industrias, como la química, la de alimentos sólidos y líquidos y el sector farmacéutico. Este sistema cromatográfico contiene una fase estacionaria y una fase móvil, esta última está conformada por un gas inerte, normalmente es helio o nitrógeno, mientras que la fase estacionaria corresponde a una columna de material sólido. (88)

## 2.5. Definición de términos básicos

- **Antioxidante:** Compuestos que pueden atenuar o evitar la oxidación de una molécula a través del intercambio de electrones. (72)
- **Antifúngico:** Toda sustancia que evita el crecimiento de hongos. (76)
- **Radicales libres:** Son moléculas que se distinguen por poseer uno o varios electrones ausentes en su orbital externo. (65)
- **Aceite esencial:** Es una mezcla múltiple de sustancias aromáticas. (51)
- **ATCC:** *American Type Culture Collection*, son organismos certificados que se emplean en diversas áreas para la supervisión de la calidad microbiana o investigaciones. (60)
- **Agar:** Es un polisacárido que se extrae de algas rojas y se utiliza en microbiología para solidificar medios de cultivo. (60)
- **DPPH:** 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo, compuesto que reacciona con un sustrato antioxidante donando un átomo de hidrógeno, pasando de color violeta a uno amarillo, siendo este último el indicador de que existen propiedades antioxidantes en el análisis de muestras. (73)
- **ABTS:** Compuesto que presenta un color verde – azul, el cual es químicamente generado por una interacción con el persulfato potásico antes de la reacción con el antioxidante. Capaz de evaluar los antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos de los extractos de plantas. (73)

## CAPÍTULO III

### METODOLOGÍA

#### 3.1. Materiales biológicos

- Aceite esencial de las hojas, tallos y flores secas de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), Proveedor: Eco nature S.A.C. Perú.
- Aceite esencial de las hojas, tallos y flores secas de *Luma chequen* (Arrayán), Proveedor: Eco nature S.A.C. Peru.
- Cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521

#### 3.2. Materiales e instrumentos de laboratorio

##### 3.2.1. Materiales de laboratorio

- Tubos de ensayo 10 y 20 mL
- Tubos de ensayo de 20 mL con tapa rosca
- Vasos de precipitado de 50, 100 y 200 mL
- Frascos termo resistentes de 250 y 500 mL
- Pipetas de 1, 5 y 10 mL
- Baguetas
- Probetas de 10 y 100 mL
- Matraces de 250 mL
- Goteros
- Placas petri
- Asa de siembra
- Hisopos estériles

##### 3.2.2. Instrumentos

- Pinzas
- Mechero bunsen
- Gradilla
- Reglas de 30 cm
- Pizetas
- Micropipeta de 10-100  $\mu$ L marca BOECO
- Micropipeta de 5-50  $\mu$ L marca BOECO

### **3.2.3. Equipos de laboratorio**

- Balanza analítica OHAUS PX224 con rango de medición de 0.1mg a 220g
- Espectrofotómetro visible JASUGO V-630 BIO con un rango de medición de 325 nm a 1100 nm
- Refrigeradora COLDEX
- Equipo destilador de agua BOECO 4L/H
- Incubadora BIOBASE
- Baño Isotérmico
- Vórtex VELP SCIENTIFICA
- Autoclave BIOBASE BKQ BxV VERTICAL PULSE

### **3.2.4. Reactivos y solventes**

- Agua destilada
- Etanol 96%
- Etanol 70%
- Metanol absoluto
- Metanol 80%
- Ácido sulfúrico 95-97%
- Cloruro de Bario
- Tween 80
- Acetona

### **3.2.5. Reactivos para la determinación de la capacidad antioxidante**

- Reactivo DPPH (2,2 - difenil - 1 - picrilhidracilo)
- Reactivo ABTS (2,2'- azinobis - 3 - etil - benzo - tiazolina - 6 - ácido sulfónico)

### **3.2.6. Reactivos empleados como patrón**

- Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8- tetramethyl chroman-2- carboxylic acid)

### **3.2.7. Medios de cultivo y discos para antibiograma**

- Agar Sabouraud Dextrosa modificado
- Fluconazol, marca (QUIMICA ESPRESS)
- Terbinafina, marca (QUIMICA ESPRESS)
- Solución salina estéril

### **3.2.8. Otros materiales**

- Cronómetro
- Cámara fotográfica
- Guantes quirúrgicos descartables
- Mascarillas
- Gorros
- Mandil
- Tijera estéril
- Detergente
- Lejía
- Marcador

### **3.3. Diseño metodológico**

#### **3.3.1. Tipo de Estudio**

El presente estudio fue de tipo correlacional, el estudio mide la relación que existe entre las variables, las concentraciones de los aceites esencial extraído de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) presentes en los Blends, la capacidad antioxidante y la capacidad antifúngica frente a la cepa del hongo *Malassezia furfur* ATCC 14521.

#### **3.3.2. Diseño de la Investigación**

El diseño fue cuasiexperimental, debido a la manipulación de la variable independiente de forma intencional y se realizó en grupos de muestra intactas de forma no aleatorizada, para analizar el efecto causado sobre las variables dependientes, con grupo control. Las variables que se evaluaron fueron las concentraciones de los aceites esencial extraído de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) presentes en los Blends, en relación a la capacidad antioxidante y antifúngica frente a la cepa del hongo *Malassezia furfur* ATCC 14521.

#### **3.3.3. Enfoque de la Investigación**

El enfoque fue cuantitativo porque la naturaleza de los datos es cuantitativa y emplea la recopilación de los datos para probar la hipótesis mediante el análisis estadístico. Este enfoque facilita la recolección de datos numéricos de los análisis y ensayos de los Blends a diferentes concentraciones.

### 3.4. Diseño experimental

#### 3.4.1. Formulación del Blend

Para obtener los Blend se siguió el siguiente diseño de mezclas binarias según el estudio de Crespo, Y. et al. (39):

TABLA N°1. Formulación del sistema Blend usando aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) (39)

Mezcla	<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	<i>Luma chequen</i> (Arrayán)
G <sub>1</sub>	--	L <sub>1</sub>
G <sub>2</sub>	S <sub>8</sub>	L <sub>2</sub>
G <sub>3-7</sub>	S <sub>3-7</sub>	L <sub>3-7</sub>
G <sub>8</sub>	S <sub>2</sub>	L <sub>8</sub>
G <sub>9</sub>	S <sub>1</sub>	--

FUENTE: Elaboración propia

DONDE:

- G<sub>1</sub>-G<sub>9</sub>: Tubo de ensayo con 100 µL de Blend

$$G_1 \neq G_2 \neq G_3 \neq G_4 \neq G_5 \neq G_6 \neq G_7 \neq G_8 \neq G_9$$

- S<sub>1</sub>– S<sub>9</sub>: Concentración µL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) (39)
- L<sub>1</sub>– L<sub>9</sub>: Concentración µL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) (39)

$$S_1 = 100 \mu\text{g/mL}$$

$$L_1 = 100 \mu\text{g/mL}$$

$$S_2 = 94 \mu\text{g/mL}$$

$$L_2 = 94 \mu\text{g/mL}$$

$$S_3 = 87 \mu\text{g/mL}$$

$$L_3 = 87 \mu\text{g/mL}$$

$$S_4 = 75 \mu\text{g/mL}$$

$$L_4 = 75 \mu\text{g/mL}$$

$$S_5 = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$L_5 = 50 \mu\text{g/mL}$$

$$S_6 = 25 \mu\text{g/mL}$$

$$L_6 = 25 \mu\text{g/mL}$$

$$S_7 = 13 \mu\text{g/mL}$$

$$L_7 = 13 \mu\text{g/mL}$$

$$S_8 = 6 \mu\text{g/mL}$$

$$L_8 = 6 \mu\text{g/mL}$$

$$S_9 = 0 \mu\text{g/mL}$$

$$L_9 = 0 \mu\text{g/mL}$$

- -: Ausencia de 1 de los aceites

### 3.4.2. Ensayo de la Capacidad Antioxidante

Para establecer la capacidad antioxidante, se utilizó el Trolox como patrón y se aplicó el siguiente diseño:

TABLA N°2. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del patrón Trolox usando el ensayo DPPH

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	--	O <sub>1</sub>
--	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
G <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	O <sub>5</sub>
G <sub>n</sub>	X <sub>n</sub>	O <sub>n</sub>

FUENTE: Elaboración propia

DONDE:

- G<sub>1</sub>-G<sub>n</sub>: Tubo de ensayo con 3 mL de reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo).

$$G_1 = G_2 = G_3 = G_4 = G_n$$

- X<sub>2</sub>: Tubo de ensayo con 2 mL de Metanol, que actuó como blanco.
- X<sub>3</sub> – X<sub>n</sub>: Es el tratamiento con antioxidante (expresado en µg/ml del patrón Trolox).

$$X_3 = 1 \mu\text{g/mL}$$

$$X_4 = 2 \mu\text{g/mL}$$

$$X_5 = 4 \mu\text{g/mL}$$

$$X_6 = 8 \mu\text{g/mL}$$

$$X_7 = 16 \mu\text{g/mL}$$

- --: Ausencia de tratamiento

- $O_1, O_2, O_3, \dots O_n$ : Evaluación de la absorbancia del tubo de ensayo en el espectrofotómetro con una longitud de onda de 517 nm, tras la utilización de X.

TABLA N°3. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del patrón Trolox usando el ensayo ABTS

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
$G_1$	--	$O_1$
--	$X_2$	$O_2$
$G_2$	$X_3$	$O_3$
$G_3$	$X_4$	$O_4$
$G_4$	$X_5$	$O_5$
$G_n$	$X_n$	$O_n$

FUENTE: Elaboración propia

DONDE:

- $G_1$ - $G_n$ : Tubo de ensayo con 1.9 mL de reactivo ABTS (2,2'-azino -bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio)).

$$G_1 = G_2 = G_3 = G_4 = G_n$$

- $X_2$ : Tubo de ensayo con 2 mL de Metanol, que actuó como blanco.
- $X_3 - X_n$ : Es el tratamiento con antioxidante (expresado en  $\mu\text{g/ml}$  del patrón Trolox).

$$X_3 = 1 \mu\text{g/mL}$$

$$X_4 = 2 \mu\text{g/mL}$$

$$X_5 = 4 \mu\text{g/mL}$$

$$X_6 = 8 \mu\text{g/mL}$$

$$X_7 = 16 \mu\text{g/mL}$$

- --: Ausencia de tratamiento
- $O_1, O_2, O_3, \dots O_n$ : Medición de la absorbancia del tubo de ensayo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm, después de usar X.

Para evaluar la capacidad antioxidante usando el ensayo DPPH del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), se siguió el diseño que se muestra en la Tabla 4:

TABLA N°4. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) usando el ensayo DPPH

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	--	O <sub>1</sub>
--	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
G <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	O <sub>5</sub>
G <sub>n</sub>	X <sub>n</sub>	O <sub>n</sub>

FUENTE: Elaboración propia

DONDE:

- G<sub>1</sub>-G<sub>n</sub>: Tubo de ensayo con 3 mL de reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), longitud de onda a 517 nm.

$$G_1 = G_2 = G_3 = G_4 = G_n$$

- X<sub>2</sub>: Tubo de ensayo con 2 mL de Metanol, que actuó como blanco.
- X<sub>3</sub> – X<sub>n</sub>: Son los Blends de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) a diferentes concentraciones (TABLA N°1).

X <sub>3</sub> =	S <sub>1</sub> = 100 µg/mL	L <sub>1</sub> = 100 µg/mL
X <sub>4</sub> =	S <sub>2</sub> = 94 µg/mL	L <sub>2</sub> = 94 µg/mL
X <sub>5</sub> =	S <sub>3</sub> = 87 µg/mL	L <sub>3</sub> = 87 µg/mL
X <sub>6</sub> =	S <sub>4</sub> = 75 µg/mL	L <sub>4</sub> = 75 µg/mL
X <sub>7</sub> =	S <sub>5</sub> = 50 µg/mL	L <sub>5</sub> = 50 µg/mL
X <sub>8</sub> =	S <sub>6</sub> = 25 µg/mL	L <sub>6</sub> = 25 µg/mL
X <sub>9</sub> =	S <sub>7</sub> = 13 µg/mL	L <sub>7</sub> = 13 µg/mL
X <sub>10</sub> =	S <sub>8</sub> = 6 µg/mL	L <sub>8</sub> = 6 µg/mL
X <sub>11</sub> =	S <sub>9</sub> = 0 µg/mL	L <sub>9</sub> = 0 µg/mL

- --: Ausencia de tratamiento.
- $O_1 - O_n$ : Medición de la absorbancia del tubo de ensayo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm.

Para evaluar la capacidad antioxidante usando el ensayo ABTS del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), se siguió el diseño que se muestra en la Tabla N°5:

TABLA N°5. Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) usando el ensayo ABTS

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	--	O <sub>1</sub>
--	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
G <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>5</sub>	O <sub>5</sub>
G <sub>n</sub>	X <sub>n</sub>	O <sub>n</sub>

FUENTE: Elaboración propia

DONDE:

- G<sub>1</sub>-G<sub>n</sub>: Tubo de ensayo con 3.9 mL de reactivo ABTS (2,2'-azino -bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio), longitud de onda a 734 nm.

$$G_1 = G_2 = G_3 = G_4 = G_n$$

- X<sub>2</sub>: Tubo de ensayo con 2 mL de Metanol, que actuó como blanco.
- X<sub>3</sub> – X<sub>n</sub>: Son los Blends de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) a diferentes concentraciones (TABLA N°1).

X <sub>3</sub> =	S <sub>1</sub> = 100 µg/mL	L <sub>1</sub> = 100 µg/mL
X <sub>4</sub> =	S <sub>2</sub> = 94 µg/mL	L <sub>2</sub> = 94 µg/mL
X <sub>5</sub> =	S <sub>3</sub> = 87 µg/mL	L <sub>3</sub> = 87 µg/mL
X <sub>6</sub> =	S <sub>4</sub> = 75 µg/mL	L <sub>4</sub> = 75 µg/mL
X <sub>7</sub> =	S <sub>5</sub> = 50 µg/mL	L <sub>5</sub> = 50 µg/mL
X <sub>8</sub> =	S <sub>6</sub> = 25 µg/mL	L <sub>6</sub> = 25 µg/mL

$X_9 =$	$S_7 = 13 \mu\text{g/mL}$		$L_7 = 13 \mu\text{g/mL}$
$X_{10} =$	$S_8 = 6 \mu\text{g/mL}$		$L_8 = 6 \mu\text{g/mL}$
$X_{11} =$	$S_9 = 0 \mu\text{g/mL}$		$L_9 = 0 \mu\text{g/mL}$

- --: Ausencia de tratamiento.
- $O_1 - O_n$ : Medición de la absorbancia del tubo de ensayo en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 734 nm, después de usar X.

### 3.4.3. Ensayo de la Capacidad Antifúngica

Para evaluar la capacidad antifúngica del Blend frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521, se siguió el siguiente diseño:

TABLA N° 6. Diseño para la determinación de la capacidad antifúngica del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
G <sub>1</sub>	X <sub>1</sub>	O <sub>1</sub>
G <sub>2</sub>	X <sub>2</sub>	O <sub>2</sub>
G <sub>3</sub>	X <sub>3</sub>	O <sub>3</sub>
G <sub>4</sub>	X <sub>4</sub>	O <sub>4</sub>
G <sub>n</sub>	X <sub>n</sub>	O <sub>n</sub>
G <sub>n+1</sub>	X <sub>n+1</sub>	O <sub>n+1</sub>
G <sub>n+2</sub>	X <sub>n+2</sub>	O <sub>n+2</sub>
G <sub>n+3</sub>	X <sub>n+3</sub>	O <sub>n+3</sub>

FUENTE: Elaboración propia

DONDE:

- G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ... G<sub>n+1</sub>, G<sub>n+2</sub>: Cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521
- X<sub>1</sub> – X<sub>n</sub>: Discos empapados con los Blends de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) a diferentes concentraciones (TABLA N°1).

X <sub>1</sub> =	S <sub>1</sub> = 100 µg/mL	L <sub>1</sub> = 100 µg/mL
X <sub>2</sub> =	S <sub>2</sub> = 94 µg/mL	L <sub>2</sub> = 94 µg/mL
X <sub>3</sub> =	S <sub>3</sub> = 87 µg/mL	L <sub>3</sub> = 87 µg/mL
X <sub>4</sub> =	S <sub>4</sub> = 75 µg/mL	L <sub>4</sub> = 75 µg/mL
X <sub>5</sub> =	S <sub>5</sub> = 50 µg/mL	L <sub>5</sub> = 50 µg/mL
X <sub>6</sub> =	S <sub>6</sub> = 25 µg/mL	L <sub>6</sub> = 25 µg/mL
X <sub>7</sub> =	S <sub>7</sub> = 13 µg/mL	L <sub>7</sub> = 13 µg/mL
X <sub>8</sub> =	S <sub>8</sub> = 6 µg/mL	L <sub>8</sub> = 6 µg/mL
X <sub>9</sub> =	S <sub>9</sub> = 0 µg/mL	L <sub>9</sub> = 0 µg/mL

- $X_{n+1}$ ,  $X_{n+2}$ : Control positivo, discos con fármaco patrón Fluconazol y Terbinafina
- $X_{n+3}$ : Control negativo, discos con etanol absoluto
- $O_1$ ,  $O_2$ ,  $O_3$ , ...  $O_6$ ,  $O_7$ ,  $O_n$ : Observación y medición de los halos de inhibición a diferentes concentraciones del Blend de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)
- $O_{n+1}$ ,  $O_{n+2}$ : Observación y medición de los halos de inhibición del control positivo del fármaco patrón (Fluconazol y Terbinafina)
- $O_{n+3}$ : Observación y medición de los halos de inhibición del control negativo

### 3.5. Variables

Identificación, definición y operacionalización de variables

#### 3.5.1. Variables implicadas

##### 3.5.1.1. Variable independiente

**Blend de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) con *Luma Chequen* (Arrayán).**

**Definición conceptual:** Se define como la combinación a partir de los aceites esenciales con bioactividad, que se unen entre sí y sin que ocurra cambios químicos en cada uno de los componentes. (89)

**Definición Operacional:**

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala:** Razón o Proporción.
- ✓ **Instrumento de Medición:** Micropipeta 10-100  $\mu\text{L}$ .
- ✓ **Proceso de Medición:** Se procedió a medir el volumen la muestra para las diferentes concentraciones, se realizó en tubos de ensayo.
- ✓ **Expresión final:**  $\mu\text{L}$ .

##### 3.5.1.2. Variables dependientes

**Capacidad antioxidante del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) con *Luma chequen* (Arrayán)**

**Definición conceptual:** Capacidad de los Blends formulados de evitar la oxidación molecular, mediante la captación de radicales libres, inhibiendo la formación de

“reacciones en cadena de los radicales libres” al ser neutralizados, debido a la suma de los efectos individuales de cada aceite esencial. (90)

**Definición Operacional:**

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala:** Razón o Proporción.
- ✓ **Instrumento de Medición:** Espectrofotómetro UV-Visible
- ✓ **Proceso de Medición:** Se midió el porcentaje de captación de radicales libres en el espectrofotómetro obteniendo las diferencias de absorbancias
- ✓ **Expresión final:** Porcentaje (%) de inhibición por los Blends formulados

**Capacidad antifúngica del Blend de aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) con *Luma chequen* (Arrayán)**

**Definición conceptual:** Capacidad de los Blends formulados de impedir el desarrollo de hongos o causar su extinción.(75)

**Definición Operacional:**

- ✓ **Naturaleza:** Cuantitativa
- ✓ **Medición:** Directa
- ✓ **Escala:** Razón o Proporción.
- ✓ **Instrumento de Medición:** Vernier, para medir los halos de inhibición.
- ✓ **Proceso de Medición:** Se midió los halos de inhibición de los discos con los Blends formulados en las placas inoculadas.
- ✓ **Expresión final:** Milímetros (mm).

- **Variables intervinientes**

- De los aceites esenciales adquiridos
  - ✓ Almacenamiento
  - ✓ Identificación
- De la cepa
  - ✓ Medio de cultivo
  - ✓ Almacenamiento
  - ✓ Identificación

**3.6. Criterios de inclusión y exclusión**

- De los aceites esenciales
  - **Criterios de inclusión:** Aceites con fecha reciente de elaboración, en buenas condiciones de almacenamiento y correctamente identificados.

- **Criterios de exclusión:** No se consideró las muestras de los aceites con posible presencia de contaminantes, o que se observasen en malas condiciones de almacenamiento.
- De la cepa
  - **Criterios de inclusión:** Cepa fúngica de *Malassezia furfur* ATCC 14521
  - **Criterios de exclusión:** No se consideró la cepa fúngica que se observe dañada o con posible presencia de contaminantes o que no cumplieron las características básicas de la cepa.

### 3.7. Operacionalización de variable

TABLA N°7. Variables implicadas

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES IMPLICADAS								
INDEPENDIENTES								
VARIABLES	INDICADORES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE INDICADORES	NATURALEZA DEL INDICADOR	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	PROCEDIMIENTO DE LA MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
<p>Blend de aceite esencial de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) con <i>Luma chequen</i> (Arrayán).</p> <p><b>Definición:</b> Se define como cantidades combinadas a partir de los aceites esenciales que se unen entre sí y sin que ocurra cambios químicos en cada uno de los componentes (89)</p>	Volumen de cada aceite esencial	Es una medida de la cantidad de espacio que ocupan los aceites, compuesto por varias sustancias químicas bio sintetizadas por las propias plantas. (51)	Cuantitativa	Directa	Razón	Se midió el volumen de los aceites esenciales que se utilizaron para cada concentración, se realizó en tubos de ensayo.	Micropipeta	Microlitros (µL)

DEPENDIENTES								
VARIABLES	INDICADORES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL DE INDICADORES	NATURALEZA DEL INDICADOR	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	PROCEDIMIENTO DE LA MEDICIÓN	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL
<p>Capacidad antioxidante del Blend de aceite esencial de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) con <i>Luma chequen</i> (Arrayán).</p> <p><b>Definición:</b> Capacidad de los Blends formulados de evitar la oxidación molecular, mediante la captación de radicales libres, inhibiendo la formación de “reacciones en cadena de los radicales libres” al ser neutralizados, debido a la suma de los efectos individuales de cada aceite esencial (90)</p>	Absorbancias obtenidas	Medida de radiación que absorbe una sustancia. (91)	Cuantitativa	Directa	Razón	El espectrofotómetro registró el porcentaje de absorción de radicales libres, lo que resultó en las diferencias de absorbancia.	Espectrofotómetro UV visible.	Porcentaje (%) de captación de radicales libres.
<p>Capacidad antifúngica de la mezcla de aceites esenciales de <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña) con <i>Luma chequen</i> (Arrayán).</p> <p><b>Definición:</b> Capacidad de los Blends formulados de impedir el desarrollo de hongos o causar su extinción. (75)</p>	Halo de difusión en disco	Patrón formado alrededor de un disco impregnado de antibiótico. (63)	Cuantitativa	Directa	Razón	Mediante el antibiograma se mide el diámetro en mm del halo del disco.	Vernier o Regla milimetrada	Milímetros (mm)

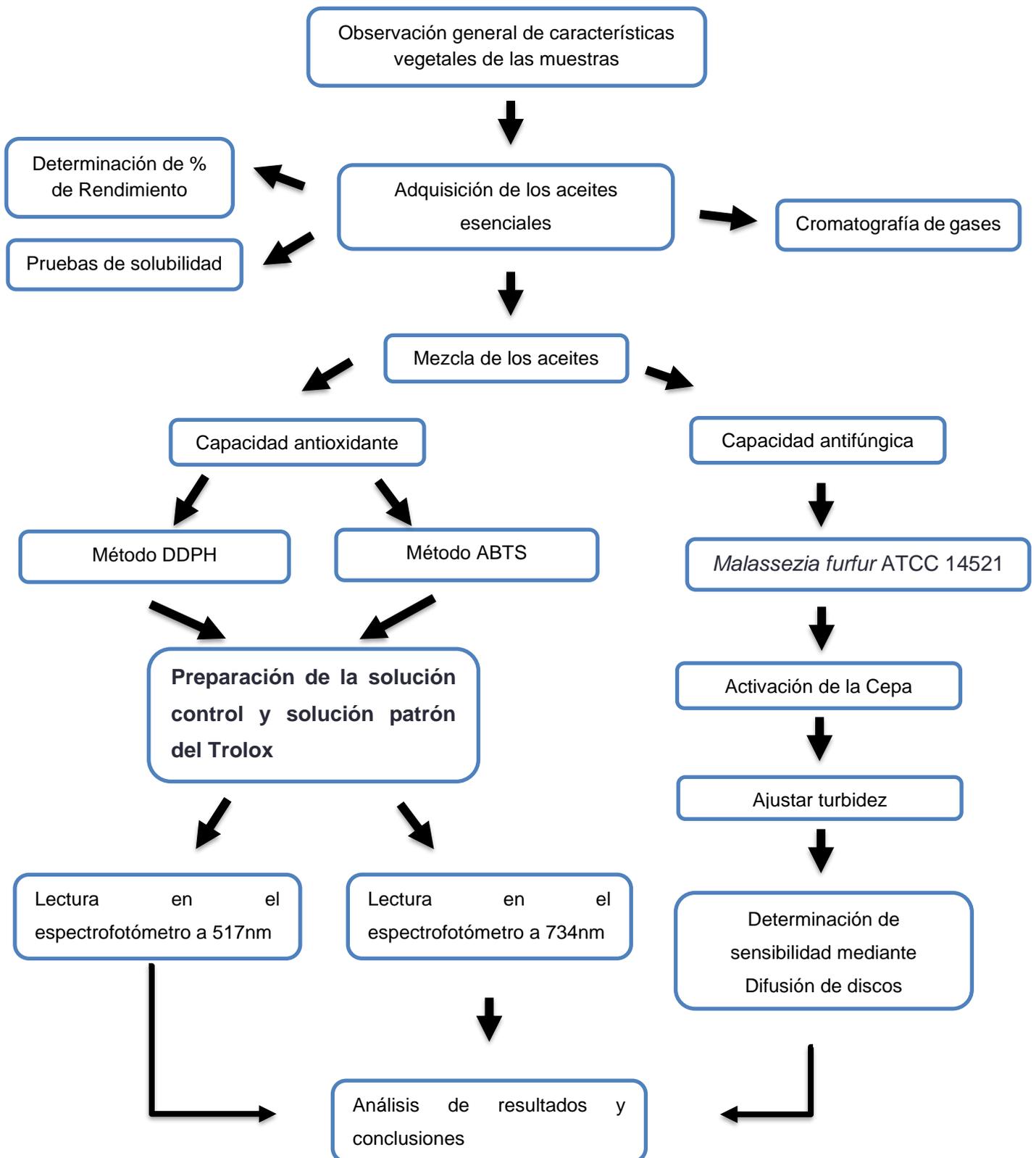
FUENTE: Elaboración Propia, 2023

TABLA N°8. Variables no implicadas

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES NO IMPLICADAS					
INTERVINIENTES					
		NATURALEZA	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA DE MEDICIÓN	EXPRESIÓN FINAL
Del Aceite Esencial	Almacenamiento	Cuantitativa	Directa	Razón	2 – 8°C
	Identificación	Cuantitativa	Directa	Nominal	Contenido Relativo %
De la Cepa	Almacenamiento	Cualitativa	Directa	Razón	2 – 8 °C
	Identificación	Cualitativa	Directa	Nominal	Spp.

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2023

### 3.8. Diagrama del procedimiento



FUENTE: Elaboración propia, 2023

### 3.9. Procedimiento general

Se realizó el reconocimiento visual de las muestras vegetales en la empresa de Eco nature S.A.C. Peru en la comunidad de Yanatile, distrito de Calca, provincia de Cusco a una altura de 1,124 m.s.n.m., se obtuvieron los datos generales y taxonómicos de ambas muestras provistos por la empresa, con ello y la adquisición de los aceites esenciales se determinó el porcentaje de rendimiento, las pruebas de solubilidad y la cromatografía de gases se realizaron en el laboratorio de Cromatografía de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, se evaluó la capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS, y finalmente se realizó la evaluación de la capacidad antifúngica de los Blends formulados en base de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) a diferentes concentraciones.



FUENTE: Google maps

#### 3.9.1. Determinación de porcentaje de rendimiento

Se determinó con la siguiente expresión:

$$\%E.E.S = \pi \frac{P.F}{P.I} \times 100$$

Dónde:

- **% E.E.S:** Porcentaje de extracción del extracto seco.
- **P.F:** Peso final del extracto seco.
- **P.I:** Peso inicial de la muestra seca molida (92)

### **3.9.2. Pruebas de solubilidad**

Se tomó 0,1 mL de cada aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), en diferentes tubos de ensayo agregando 1 mL de solventes tales como: agua destilada, metanol 80%, metanol absoluto, etanol 70%, etanol 90%, acetona, éter etílico y cloroformo. (93)

### **3.9.3. Cromatografía de gases**

Se determinó de manera específica los diferentes compuestos químicos presentes en los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), permitiendo identificar y cuantificar los metabolitos mayoritarios. (42)

### **3.9.4. Formulación de los Blends**

Las diferentes concentraciones para los Blends formulados se midieron usando una micropipeta y se mezclaron en tubos de ensayo. Luego las mezclas se agitaron con ayuda del Vortex por 3 minutos, formando mezclas homogéneas.

### **3.9.5. Determinación de capacidad antioxidante de los Blends**

La determinación de la capacidad antioxidante de los Blends formulados se realizó de acuerdo con los métodos de decoloración de los radicales DDPH “1-1-difenil-2-picrilhidrazilo” de Brand Williams, y ABTS “2,2'-azino -bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio”

#### **3.9.5.1. Metodología del radical DPPH “1-1-difenil-2-picrilhidrazilo”**

El radical DPPH alcanza su máxima absorción a una longitud de 517 nm. Cuando se confronta una solución de radical libre con moléculas antioxidantes, se produce un fenómeno de óxido-reducción, reduciendo la absorbancia del radical.

Procedimiento:

a) Preparación de la Solución Stock de DPPH

Se disolvió 3.9 mg de DPPH en 100mL de metanol absoluto mezclando de manera homogénea, luego se almacenó sin acceso a la luz y fue recubierto en papel aluminio a 4°C - 8°C por 24 horas. Después de este periodo, se determinó la absorbancia del DPPH y se llevaron a cabo 03 disoluciones. De esta forma, se consiguió mantener el DPPH en el rango permitido de 0.8 a 1 de absorbancia, a 517 nm. Con esta solución de reserva, se elaboró una solución estándar de DPPH que se mezcló con las diferentes preparaciones de Blend de los aceites esenciales. (94)

b) Preparación de solución patrón

Se elaboró una solución de reserva de 1 mg de Trolox /10 mL de metanol al 80%, la cual fue sometida a sonicación durante 20 minutos para una mejor homogeneización. Se cubrió la solución con papel aluminio y se permitió que reaccionara a temperatura ambiente durante 1 hora en la oscuridad. Después de esto, se llevaron a cabo las disoluciones de concentraciones de 1µg/mL, 2µg/mL, 4µg/mL, 8µg/mL y 16µg/mL para realizar la curva referencial de comparación. (40)

c) Preparación de la curva referencial

En la curva diferencial a 3 mL de DPPH, se añadió 1 mL de Trolox a distintos niveles de concentración; posteriormente, se registraron las absorbancias durante 30 min a 517 nm, y se determinó el porcentaje de captación de acuerdo con la oscilación de color detectada de violeta a amarillo, la cual puede ser comprobada numéricamente mediante la siguiente fórmula: (42)

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A(DPPH) - A(MUESTRA)}{A(DPPH)} \times 100$$

Donde:

- A(DPPH)= Absorbancia del control
- A(muestra)= Absorbancia de la muestra

d) Medición de la capacidad antioxidante del Blend

Se preparó el Blend en las concentraciones mostradas en Tabla N°1, posteriormente a 1 ml del Blend se trató con 3 mL de DDPH. Estas soluciones permanecieron en la penumbra durante 30 minutos para interpretar sus absorbancias a 517nm. La intensidad de coloración DPPH-morado a DPPH-amarillo refleja la eficacia de absorción de la mezcla de aceites. El experimento se llevó a cabo en triplicado y se aplicó la fórmula

siguiente para determinar el porcentaje de captación de radicales libres del aceite esencial:

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A(DPPH) - A(MUESTRA)}{A(DPPH)} \times 100$$

Donde:

- A(DPPH)= Absorbancia del control
- A(muestra)= Absorbancia de la muestra (92)

### 3.9.5.2. Flujograma: capacidad antioxidante procedimiento

Se tomó 1 mL de la formulación del Blend de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) en un tubo de ensayo

Se adicionó los 3 mL de DPPH, y se homogenizó

Se ajustó el equipo espectrofotómetro a 517nm de longitud de onda

La absorbancia de la solución se midió en el espectrofotómetro por cada 30 segundos durante 10 minutos

Resultados y análisis

FUENTE: Elaboración propia, 2023

### 3.9.5.3. Metodología del radical ABTS "2,2'-azino -bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonato de amonio"

El radical ABTS alcanza su máxima absorción a una longitud de 734 nm. Cuando la solución de radical libre se topa con moléculas antioxidantes, se produce un fenómeno de óxido-reducción, reduciendo la absorbancia del radical, mostrando un inicial tono verde azulado que se va desvaneciendo gradualmente durante la reacción.

Procedimiento:

a) Preparación de la Solución Stock de ABTS

Se diluyó 3.3mg de Persulfato de Sodio más 19.4mg de ABTS, en 5mL de Agua destilada, se tomó 150µL de la solución para mezclarlo con 15mL de Metanol al 80%,

se agitó vigorosamente para luego almacenarlo sin acceso a la luz, recubierto en papel aluminio a 4°C - 8°C por 24 horas. Pasado el tiempo se midió la absorbancia del ABTS y se realizaron disoluciones, de esa manera se logró mantener el ABTS en el rango permitido de 0.7 de absorbancia a 734 nm, para poder mezclar con las diferentes concentraciones de los Blends. (40)

b) Preparación de solución patrón

Se usó el mismo patrón que en el método de DDPH, con disoluciones de concentraciones de 1µg/mL, 2µg/mL, 4µg/mL, 8µg/mL y 16µg/mL, 32 µg/mL, 64 µg/mL, para realizar la curva referencial de comparación con Trolox. (40)

c) Preparación de la curva referencial

Se realizó el mismo procedimiento de la metodología del ensayo con DPPH. (42)

d) Medición de la capacidad antioxidante del Blend

Se preparó las mezclas en concentraciones mostradas en la Tabla N°1 en etanol absoluto, posteriormente se trató con 1.9ml de ABTS. Estas soluciones fueron guardadas en la penumbra durante 30 minutos para leer sus absorbancias a 734nm. El grado de coloración ABTS-verde azulado a ABTS-transparente indicó la eficiencia de captación de la mezcla de aceites. El ensayo se realizó por triplicado y se utilizó la siguiente fórmula para calcular el % de captación de radicales libres del aceite esencial:

$$\% \text{ de captación ABTS} = \frac{A(\text{ABTS}) - A(\text{MUESTRA})}{A(\text{ABTS})} \times 100$$

Donde:

- A(DPPH)= Absorbancia del control
- A(muestra)= Absorbancia de la muestra (92)

#### 3.9.5.4. Flujograma: capacidad antioxidante procedimiento

Se tomó 0.1 mL de la formulación del Blend en base de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) en un tubo de ensayo

Se adicionó 1.9 mL de ABTS, y se homogenizó

Se ajustó el espectrofotómetro a una longitud de onda de 734nm

Se midió la absorbancia de la solución en el espectrofotómetro por cada 30 segundos durante 10 minutos

Resultados y análisis

FUENTE: Elaboración propia, 2023

#### 3.9.6. Determinación de capacidad antifúngica de los Blends

##### 3.9.6.1. Procesamiento de microorganismo

Reactivación de la cepa ATCC

- Se reactivó la cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521 utilizando Caldo Sabouraud Dextrosa y Agar Sabouraud Dextrosa modificado
- Se preparó Agar Sabouraud Dextrosa modificado, al Agar Sabouraud Dextrosa se le añadió aceite de maíz para que la cepa pueda enriquecerse más y tenga un mejor crecimiento.
- Se activó en Agar Sabouraud Dextrosa modificado y se incubó a 25 - 30°C durante 3 a 5 días.
- Pasado los 3 a 5 días se añadió 1 mL de Caldo Sabouraud Dextrosa y se colectó en un tubo de ensayo para llevar a incubación nuevamente.
- Después de 3 a 5 días, se ajustó la turbidez a 0.5 según la escala de McFarland.

Preparación de las placas Petri

- Se preparó las placas Petri utilizando aproximadamente 20 ml de Agar Sabouraud Dextrosa modificado
- Se preparó discos con los Blends a diferentes concentraciones de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) como en

la Tabla N°1, y para el control del fármaco patrón se usó discos de Fluconazol y Terbinafina en 15ug/25uL.

- Obtenida la suspensión de *Malassezia furfur* ATCC 14521, se procedió a la siembra con la ayuda de un hisopo estéril sobre placas del Agar Sabouraud Dextrosa modificado previamente preparadas
- Se colocaron los discos de los Blends y control en las placas petri de manera equidistante, rotulados y con la tapa hacia arriba a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de colocarlo en la incubadora.
- Posteriormente se llevó a incubar por 24 horas a una temperatura de 25 - 30°C, se prolongó por 24 horas más su incubación y se midieron.

### **3.10. Técnicas e instrumentos de recolección de datos**

- Observación experimental
- Formato de recolección de resultados

### **3.11. Técnicas para procesamiento y análisis de la información**

Para el procesamiento de los datos obtenidos se usó una matriz de sistematización de datos en Microsoft Excel y después fueron procesados con el software SPSS 25.0 para lo cual se consideró lo siguiente:

- Distribución de frecuencia absoluta y porcentual.
- Medida de tendencia central y dispersión.
- Análisis de varianza de un solo factor y test Post Hoc de Tukey.
- Nivel de confiabilidad utilizado será del 95 %

## CAPÍTULO IV

### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1. Determinación de porcentaje de rendimiento

TABLA N°9. Porcentaje de rendimiento de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán).

ESPECIE VEGETAL	PESO INICIAL DE LA MUESTRA MOLIDA SECA	PESO FINAL DEL ACEITE ESENCIAL	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	96.5g	1 L	1.04%
<i>Luma chequen</i> (Arrayán).	137.5g	1 L	0.73%

Fuente: Elaboración propia 2024

#### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Tabla N°9 se utilizó los datos provistos por la empresa Econature y se observó que el porcentaje de rendimiento del aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) obtenido por arrastre de vapor es de 1.04%, en Cusco en el reporte de Urrunaga R y colaboradores, 1995 (9) se observa un valor similar de 1.03%, a diferencia del valor 2.03% obtenido por Huanqui AS, 2019 (98) mediante hidrodestilación.

Para el caso de la especie *Luma chequen* (Arrayán) el valor obtenido fue 0.73% comparando los resultados obtenidos con los resultados de Fernández LA, 2019 (95) en Arequipa siendo el porcentaje de rendimiento reportado de 0,83% que obtuvo con muestra desecada previamente.

En ambas especies se tiene un porcentaje de rendimiento admisible para aceites esenciales, siendo que también se encuentran dentro del rango reportado por Farrell KT, 1998 (99), donde menciona que generalmente los aceites esenciales de la mayoría de plantas aromáticas tienen rendimientos de entre 0.5-2%. Villaverde IC 2018 (56), menciona además que el rendimiento es afectado por el secado de la planta, la época de recolección, el lugar geográfico, temperatura y el tipo de extracción, factores que predisponen la repuesta a la exposición por vapores de la extracción por arrastre de vapor.

Por lo anteriormente observado, se destaca que para obtener aceites esenciales de las especies vegetales *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), adecuados para los estudios de bioactividad se necesita mayor cantidad de muestra recolectada en la región Cusco

#### 4.2. Pruebas de solubilidad

TABLA N° 10. Pruebas de solubilidad de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán).

SOLVENTE	ESPECIE VEGETAL	
	ACEITE ESENCIAL DE <i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	ACEITE ESENCIAL DE <i>Luma chequen</i> (Arrayán)
AGUA DESTILADA	-	-
METANOL 80%	-	-
METANOL ALSOLUTO	+++	+++
ETANOL 70%	++	+
ETANOL 96%	+++	+++
ACETONA	+++	+++
ÉTER ETÍLICO	+++	+++
CLOROFORMO	+++	+++

Fuente: Elaboración propia 2024

Leyenda:

- +++ Totalmente soluble
- ++ Parcialmente soluble
- + Muy poco soluble
- Insoluble

#### Análisis e interpretación de resultados

En la Tabla N°10 sobre solubilidad de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), se observa que el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) es totalmente soluble en metanol absoluto, etanol al 96%, acetona, éter

etílico y cloroformo, además esta solubilidad se ve disminuida con etanol al 70%, y es insoluble en agua y metanol al 80%.

En el estudio de Merma C, 2017 (96) el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Cjuñuca) presenta buena solubilidad en etanol de 90%, metanol, acetona, parcial solubilidad en éteretílico y cloroformo, y es insoluble en solventes polares como el agua. Describiendo el aceite como de polaridad intermedia.

Se observa además que el aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) es soluble en: metanol absoluto, etanol al 96%, acetona, éteretílico y cloroformo, en cambio poco soluble en etanol al 70% e insoluble en agua y metanol al 80%.

Fernandez GA, 2024 (47) en su estudio indica que el extracto metanólico de hojas de la especie *Luma chequen* (Arrayán) es soluble en solventes polares como: etanol y metanol, pero agua no, y es menos soluble en cloroformo. Lo que podría estar relacionado a que los compuestos bioactivos son más afines a solventes de polaridad intermedia.

De acuerdo con estos resultados se vio un sesgo en los resultados del metanol, por lo que se recurrió a la bibliografía y se interpretó que el metanol (CH<sub>3</sub>OH) al ser un alcohol de cadena corta es un solvente polar debido a su grupo hidroxilo (-OH), presentando una alta capacidad de disolver tanto compuestos polares como moderadamente no polares, especialmente si tienen interacciones como enlaces de hidrógeno o dipolo-dipolo, reduciendo así la formación de micelas o fases separadas, promoviendo una mejor interacción entre el aceite esencial y el solvente. (100)

Los aceites esenciales de *Satureja boliviana* y *Luma chequen* contienen compuestos como: Monoterpenos oxigenados (carvacrol, timol, 1,8-cineol, linalol), Compuestos fenólicos (flavonoides, taninos), Sesquiterpenos oxigenados (espatulenol, germacreno D) los cuales presentan en su composición grupos funcionales polares (hidroxilo, metoxilo, carbonilo) capaces de formar enlaces de hidrógeno con el metanol, lo que favorece su solubilidad (101,102), de ello se entiende que al contener estos compuestos oxigenados los aceites esenciales de estas especies tienen más afinidad por el solvente metanol.

### 4.3. Composición química de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán).

TABLA N°11. Composición química del aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) mediante cromatografía de gases

PICOS	TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPUESTO	CONTENIDO RELATIVO % EN LOS ACEITES ESENCIALES
33	16.99	Carvacril acetato	21.6
29	15.02	3-Methyl-4-isopropylphenol	12.4
24	13.27	Pulegona	12.2
9	7.23	p-Cymeno	11.5
12	8.12	.gamma.-Terpinene	6.9
37	18.28	Caryophyllene	3.6
43	20.30	Germacrene B	3.6
18	10.77	l-Menthona	2.6
1	4.94	beta-Thujene	2.2
28	14.71	Thymol	2.0
20	11.31	Levomenthol	1.8
14	9.21	Linalol	1.7
10	7.33	D-Limonene	1.6
16	9.52	1-Octen-3-yl-acetate	1.6
31	16.40	Thymol acetate	1.4
8	7.00	(+)-4-Carene	1.2
34	17.19	Geranyl formate	1.2
19	11.07	(±)-Isomenthone	0.9
21	11.44	Terpinen-4-ol	0.9
6	6.33	.beta.-Myrcene	0.8
46	22.34	Spathulenol	0.8
30	16.17	Eucarvone	0.7
26	13.67	piperitone	0.6
2	5.10	(+)-alpha-pinene	0.5
5	6.05	.beta.-Pinene	0.5
23	12.00	trans-dihydrocarvone	0.5
47	22.50	Globulol	0.3
4	5.97	beta-Thujene	0.2
7	6.70	.alpha.-Phellandrene	0.2
11	7.41	Eucalyptol	0.2
15	9.31	Pentanoic acid, 2-methylbutyl ester	0.2
22	11.82	.alpha.-Terpineol	0.2
38	18.78	Aromandendrene	0.2
39	19.16	Humulene	0.2
40	19.35	Alloaromadendrene	0.2
44	20.50	Eremophilene	0.2
3	5.32	2,4-thujadiene	0.1
13	8.91	(+)-4-Carene	0.1
25	13.37	(-)-Carvone	0.1
27	14.53	Bornyl acetate	0.1
35	17.49	beta-elemene	0.1
41	19.87	Germacrene D	0.1
42	20.11	alpha-Bergamotene	0.1
45	20.93	delta-Cadinene	0.1
48	22.72	gamma-Gurjunene	0.1

FUENTE: Datos obtenidos en el laboratorio de cromatografía de gases UNSAAC, 2023

## **Análisis e interpretación de resultados**

En la Tabla N° 11 sobre resultados mediante cromatografía de gases (ver ANEXO N°7) del aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), se puede observar que los principales compuestos encontrados de un total de 48 compuestos, en mayor cantidad son los siguientes: carvacril acetato 21.6%, 3 – metil – 4 isopropilfenol 12.4%, pulegona 12.2 %, p – cimeno 11.5 %, mentona 2.6%, linalol 1.7%, limoneno 1.6%, isomentona 0.9% y eucaliptol 0.2%

En Cusco Merma C, 2017 (96) menciona que aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Cjuñuca) presenta Isomentona como componente mayoritario con 44.24%, mentona 22.22 %, pulegona 8.23 %, linalol 3.17%, 1.8 cineol (eucaliptol) 1.8% y limoneno 2.08% a los cuales les atribuye el efecto antimicótico frente a *Trichophyton rubrum*. Salcedo M y colaboradores, 2021 (36) en su estudio describe que los compuestos mayoritarios del aceite esencial son los siguientes: pulegona 27.2 %, linalol 20.3%, mentona 11.1 % y p-cimeno 2,0 %, resultados que en dicho estudio asocian a sus actividades más representativas y las presentan en grupos de acción.

El valor más resaltante es el de la pulegona que difiere en casi 4% del estudio realizado por Merma C, 2017 (96) metabolito monoterpénico al cual se le puede atribuir la capacidad antimicrobiana, según estos resultados se infiere que su cantidad encontrada se debe a diferentes factores como la recolección, la localización donde se encuentra y el procedimiento de extracción, los cuales como se evidencia provocan el aumento o la disminución en las cantidades encontradas de compuestos en el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), esto puede afectar la respuesta de capacidad antioxidante, antibacteriana, antifúngica u otras del aceite esencial.

TABLA N° 12 Composición química del aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) mediante cromatografía de gases

PICOS	TIEMPO DE RETENCIÓN	COMPUESTO	CONTENIDO RELATIVO % EN LOS ACEITES ESENCIALES
6	5.1916	(+)-alpha-pinene	39.7
17	7.4201	Eucalyptol	11.1
10	6.0754	(1S)-beta-Pinene	8.0
20	9.2342	Linalol	6.7
36	20.2625	alpha-Selinene	4.8
35	20.0341	beta-selinene	4.6
16	7.3228	D-Limonene	2.9
14	6.9507	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylbutyl ester	2.3
29	18.2496	Caryophyllene	2.2
26	11.8221	.alpha.-Terpineol	2.0
4	4.6377	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	1.8
34	19.7043	gamma-Selinene	1.0
15	7.2044	p-Cymene	0.8
32	19.3449	Alloaromadendrene	0.7
39	20.846	Benzo[b]thiophene, 3-(pentylthio)-	0.7
40	20.9264	delta-cadinene	0.7
43	24.2163	Cyclooctene, 3-ethenyl-	0.7
5	4.9548	beta-thujene	0.6
13	6.8535	Hexane, 2,3-dimethyl-	0.6
11	6.6167	Butanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	0.5
18	8.0925	.gamma.-Terpinene	0.5
21	9.3146	isoamyl 2-methyl butyrate	0.5
25	11.4331	Terpinen-4-ol	0.5
37	20.4612	.alpha.-Farnesene	0.5
30	18.7656	Aromadendrene	0.4
8	5.4369	(-)-camphene	0.3
19	8.9044	(+)-4-Carene	0.3
24	11.116	endo-Borneol	0.3
31	19.1504	Humulene	0.3
2	3.5425	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.2
12	6.7435	2-Pentenoic acid, 4-methyl-, ethyl ester, (E)-	0.2
22	9.6275	Fenchyl alcohol	0.2
23	10.3506	Isopinocarveol	0.2
27	17.0403	.alfa.-Copaene	0.2
33	19.5648	4,5-di-epi-aristolochene	0.2
42	21.8694	(+)-nerolidol	0.2
1	2.4811	Ethyl isobutyrate	0.1
3	3.6313	Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	0.1
7	5.3988	alpha-Fenchene	0.1
9	5.8767	2-Pentanol propanoate	0.1
28	17.9748	alpha-gurjunene	0.1
38	20.7023	alpha-amorphene	0.1
41	21.1632	Naphthalene, 1,2,3,4,4a,7-hexahydro-1,6-dimethyl-4-(1-methylethyl)-	0.1

FUENTE: Datos obtenidos en el laboratorio de cromatografía de gases UNSAAC, 2023

En la Tabla N° 12, se observa los resultados mediante cromatografía de gases (ver ANEXO N°8) del aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), se puede observar que los principales compuestos encontrados en mayor cantidad son los siguientes:  $\alpha$  – pineno 39.73 %, Eucaliptol 11.11 %,  $\beta$ – pineno 8.02%, Linalol 6.69 % y gamma Terpineno 0.46%

En Cusco el estudio de Farfan Y. y Santos R, 2016 (48) el aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) presento como componentes mayoritarios:  $\alpha$ - pineno, delta-3-carene y gamma Terpineno con 37.90%, eucaliptol con 14.07%, linalol 9.71% y  $\beta$ -pineno con un 8.95% a los que les atribuyen la propiedad antibacteriana. Fernandez LA, 2019 (95), destaca en su estudio en Arequipa los siguientes compuestos:  $\alpha$  – pineno,  $\beta$  – pineno y sabinene 32.23 % (quienes confieren el olor característico de la planta), eucaliptol 15.64 %, linalol 7.26 % y gama terpineno 2.32%.

Esta comparación nos permite demostrar que las cantidades de metabolitos obtenidos en nuestra especie son semejantes a las del estudio de Farfan Y. y Santos R, 2016 (48) por ejemplo  $\alpha$  – pineno, metabolito monoterpénico al cual se le puede atribuir la capacidad antioxidante, el cual presenta un ligera variación lo que se atribuye a factores como la recolección, la región donde se encuentra o el procedimiento de extracción, proporcionando como resultado final la mayor o menor capacidad antioxidante, antibacteriana, antifúngica u otras del aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán).

TABLA N°13. Comparación de la composición química los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) mediante cromatografía de gases

COMPUESTO	PICOS	TIEMPO DE RETENCIÓN	SATUREJA BOLIVIANA (KHUÑU MUÑA)	PICOS	TIEMPO DE RETENCIÓN	LUMA CHEQUEN (ARRAYÁN)
(+)-alpha-pinene	2	5.10	0.5%	6	5.1916	39.7%
Eucalyptol	11	7.41	0.2%	17	7.4201	11.1%
Linalol	14	9.21	1.7%	20	9.2342	6.7%
D-Limonene	10	7.33	1.6%	16	7.3228	2.9%
Caryophyllene	37	18.28	3.6%	29	18.2496	2.2%
.alpha.-Terpineol	22	11.82	0.2%	26	11.8221	2.0%
p-Cymene	9	7.23	11.5%	15	7.2044	0.8%
gamma.-Terpinene	12	8.12	6.9%	18	8.0925	0.5%
beta-Thujene	1	4.94	2.2%	5	4.9548	0.6%
(+)-4-Carene	8	7.00	1.2%	19	8.9044	0.3%
Terpinen-4-ol	21	11.44	0.9%	25	11.4331	0.5%

FUENTE: Datos obtenidos en el laboratorio de cromatografía de gases UNSAAC, 2023

En la Tabla N° 13, se observó la comparación de los resultados de la composición química de cada aceite esencial obtenidos mediante cromatografía de gases, los compuestos  $\alpha$  – pineno, Eucalyptol, Linalol, p-Cymene, gamma.-Terpinene y beta-Thujene, se encuentran en valores distantes.

Nagarjuna, 2019 (52) menciona las propiedades y características de los compuestos de los aceites esenciales, como son los hidrocarburos y compuestos oxigenados, que son responsables según sus cantidades de proporcionar bioactividad a los extractos de las plantas.

En ambas especies se puede observar que comparten ciertos compuestos bioactivos, a los que se atribuyó su intervención al momento de determinar la solubilidad, capacidad antioxidante y antifúngica de los diferentes Blends.

#### 4.4. Determinación de la Capacidad Antioxidante

##### Capacidad antioxidante de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

##### 4.4.1. Curva de calibración del patrón Trolox

TABLA N°14. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para DPPH)

N°	CONCENTRACIÓN (µg/mL)	% INHIBICIÓN
1	2	27.38
2	4	28.25
3	8	31.88
4	16	38.13

Fuente: Elaboración propia 2024

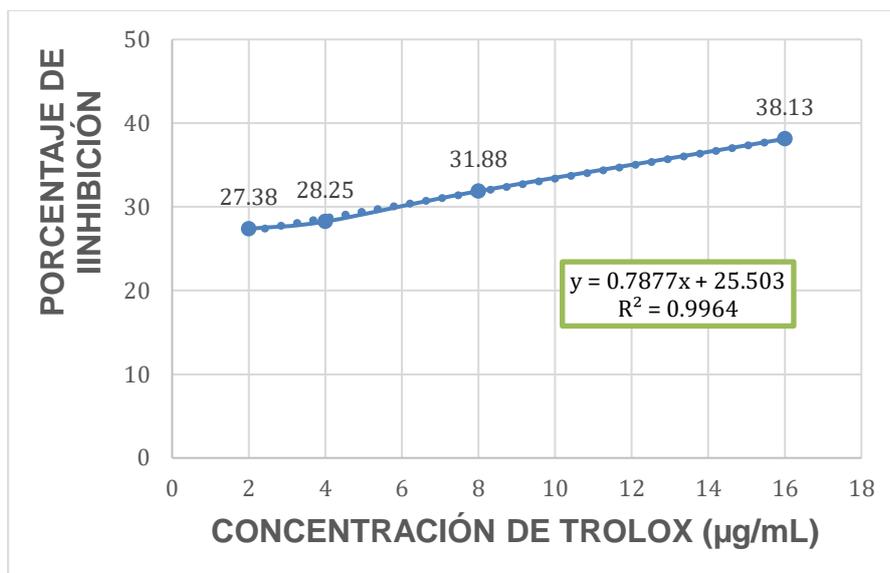
##### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Tabla N°14 se muestra la relación entre las concentraciones planteadas del patrón Trolox (µg/mL) con el porcentaje de inhibición, se calculó el porcentaje de captación de radical libre y se obtuvo como resultado un 38.13% a una concentración de 16 µg/mL, 31.88% a una concentración de 8 µg/mL, 28.25% a una concentración de 4 µg/mL y 27.38% a una concentración de 2 µg/mL. Indicando que a mayor concentración de patrón existe mayor capacidad antioxidante, existiendo una relación directamente proporcional como se muestra en la Figura N°4.

Según Sancho C, 2021 (103) en su investigación sobre “Evaluación de la actividad antioxidante de extractos acuoso y etanólico de bayas de Saúco (*Sambucus peruviana* H.B.K.)” se utilizó Trolox como patrón a concentraciones parecidas al presente estudio, dando para 1 µg/ml un porcentaje de captación de 10.86 % y en su mayor concentración a 5 µg/ml un 57.8 %.

Al compararlo se observa una similitud de la relación directamente proporcional de valores resultados frente al porcentaje de inhibición de radicales libres, por lo que se deduce que el Trolox cumple con la función de patrón.

FIGURA N° 4. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para DPPH)



Fuente: Elaboración propia 2024

#### **Análisis e interpretación de resultados**

En la figura N°4 se observó la curva de calibración de la concentración del patrón Trolox (µg/mL) y el porcentaje de inhibición del radical DPPH, donde se obtuvo la ecuación  $Y=0.7877x + 25.503$  con un coeficiente de determinación  $R^2= 0.9964$ , que es cercano a 1, que según el análisis estadístico indica el porcentaje del ajuste obtenido con el modelo lineal.

En el estudio de Duran R, 2018 (104) sobre “Actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* (Musgo Blanco)” también se utilizó Trolox como patrón para el ensayo DPPH y reporta el valor obtenido del coeficiente  $R^2= 0.9975$ . Este valor obtenido es aproximado al presentado por Sancho C, 2021 (103)  $R^2= 0.9996$ .

Corroborando que la capacidad antioxidante del patrón depende de su concentración, aunque en el procedimiento experimental no se utilizó las mismas concentraciones. Es decir el porcentaje de la variación de la absorbancia se explica a través del comportamiento de Trolox, dependiente del mismo.

TABLA N°15. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para ABTS)

N°	CONCENTRACIÓN (µg/mL)	% INHIBICIÓN
1	2	24.14
2	4	36.43
3	8	63.86
4	16	94.14

Fuente: Elaboración propia 2024

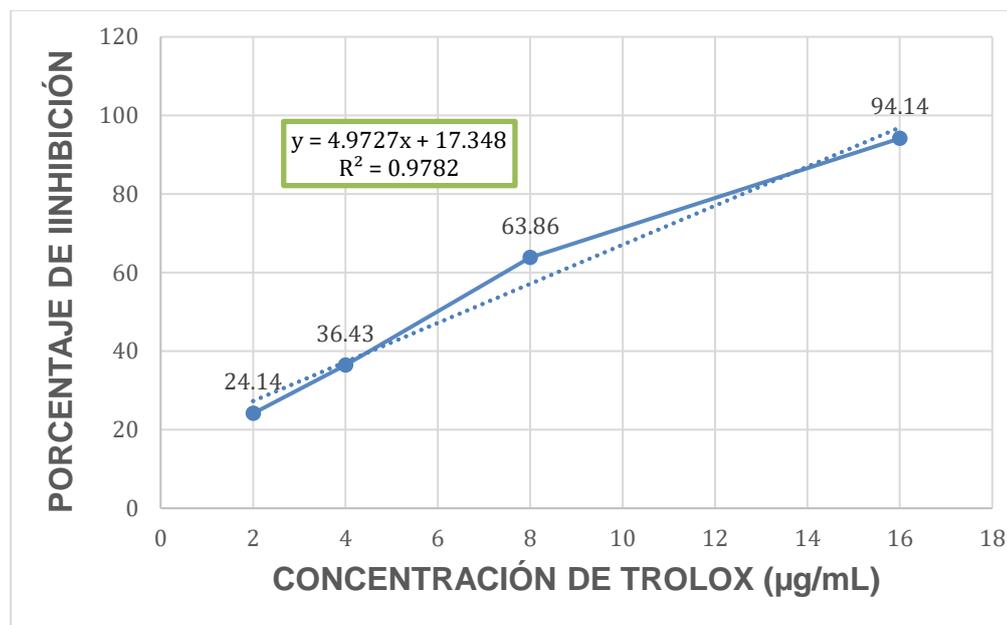
### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Tabla N°15 se muestra la relación concentración del patrón Trolox (µg/mL) con el porcentaje de inhibición, se calculó el porcentaje de captación de radical libre y se obtuvo como resultado un 94.14% a una concentración de 16 µg/mL, 63.86% a una concentración de 8 µg/mL, 36.43% a una concentración de 4 µg/mL y 24.14% a una concentración de 2 µg/mL. Indicando que a mayor concentración de patrón existe mayor capacidad antioxidante, existiendo una relación directamente proporcional como se muestra en la figura N°5, en la curva patrón medida con el método DPPH.

Según Florez G y Florez E, 2024 (105) en su investigación sobre “Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro de los extractos metanólicos liofilizados de *Pleurotus djamor* frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *Escherichia coli* ATCC 25922, de las setas cultivadas en el centro poblado de Kiteni - Echarate, La Convención” se utilizó trolox como patrón a concentraciones diferentes al presente estudio, dando para 1.875 µg/ml un porcentaje de captación de 17.80 % y en su mayor concentración a 15 µg/ml un 62.51 %.

Al compararlo se observa una similitud de la relación directamente proporcional de valores resultados frente al porcentaje de inhibición de radicales libres, por lo que se deduce que el trolox igualmente cumple con la función de patrón para el ensayo ABTS.

FIGURA N° 5. Curva de calibración de la concentración de Trolox con el porcentaje de inhibición (determinación de porcentaje de capacidad antioxidante para ABTS)



Fuente: Elaboración propia 2024

### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Figura N°5 se observa la curva de calibración de la concentración del patrón trolox ( $\mu\text{g/mL}$ ) y el porcentaje de inhibición del radical ABTS, donde se obtiene la ecuación  $Y=4.9727x + 17.348$  con un coeficiente de determinación  $R^2= 0.9782$ , que es cercano a 1, que según el análisis estadístico indica el porcentaje del ajuste obtenido con el modelo lineal es decir el porcentaje de la variación de la absorbancia se explica a través del comportamiento de trolox.

El valor obtenido del coeficiente es aproximado al presentado por Florez G y Florez E, 2024 (105)  $R^2= 0.9998$ .

Corroborando que la capacidad antioxidante del patrón Trolox depende de su concentración, aunque en el procedimiento experimental no se utilizó las mismas concentraciones para el ensayo ABTS.

#### 4.4.2. Capacidad antioxidante por el método de DPPH de los Blends formulados

TABLA N° 16. Absorbancia y porcentaje de inhibición por el método DPPH de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

MEZCLA	CONCENTRACIÓN (µg/mL)		ABSORBANCIA	% INHIBICIÓN
	<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	<i>Luma chequen</i> (Arrayán)		
1	0	100	0.612	23.500
2	6	94	0.535	33.125
3	13	87	0.221	72.375
4	25	75	0.195	75.625
5	50	50	0.132	83.500
6	75	25	0.105	86.875
7	87	13	0.103	87.125
8	94	6	0.084	89.500
9	100	0	0.081	89.875
<b>Abs (DPPH)</b>	0.8			

Fuente: Elaboración propia 2024

#### Análisis e interpretación de resultados

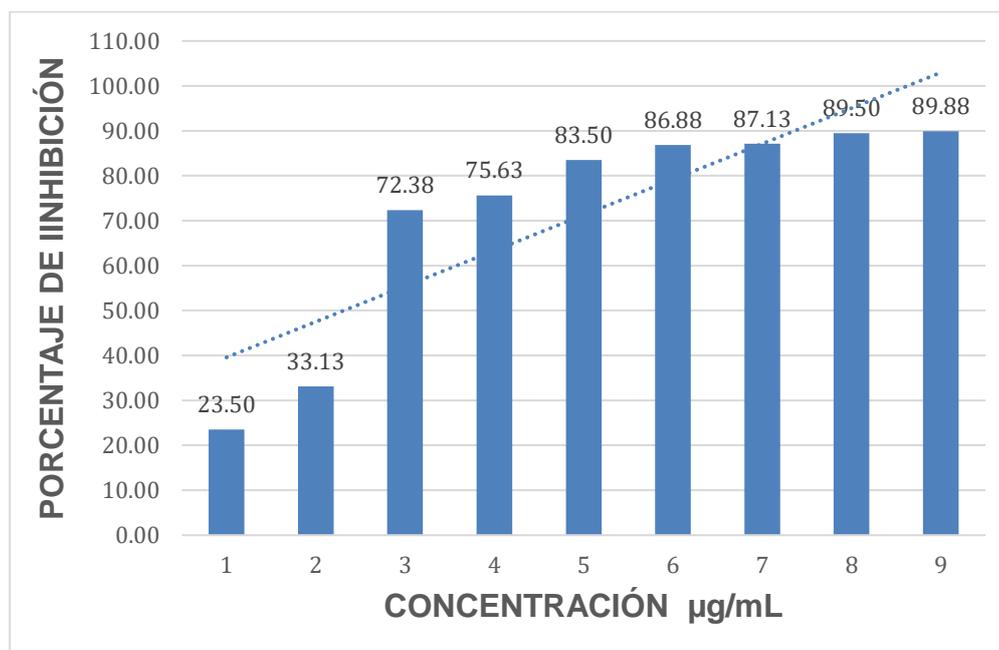
En la Tabla N° 16 se muestra los resultados promedios de los valores de absorbancia obtenidos de las pruebas realizadas por triplicado, para cada Blend formulado con los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), obteniéndose un máximo valor de inhibición de 89.50% en el Blend número 8 formulado con 94 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 6 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) y un mínimo valor de inhibición de 33.13% en el Blend número 2 formulado con 6 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 94 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), considerando que ambos Blends están compuestos por 2 aceites. Aunque también se observa capacidad antioxidante utilizando los aceites esenciales individualmente.

Solis L, 2017 (44) indica en su estudio que usando los aceites esenciales de *Tanacetum vulgare* y *Mentha x piperita* L. var. *vulgaris* cultivados en Cusco, obtuvo  $58.26 \pm 0.9\%$  de inhibición de radical DPPH con el aceite esencial de *T. vulgare* a  $4\ 500\ \mu\text{g}/\text{mL}$  y  $69.1 \pm 3.4\%$  con el aceite esencial de *M. x piperita* a  $500\ \mu\text{g}/\text{mL}$ , se observa que el porcentaje de inhibición depende de la concentración, además de ello demuestra la importancia del tipo de extracto, para obtener mejores resultados y proporción de compuestos bioactivos, al igual que Olivera L y Gutierrez E, 2021 (42) que obtuvieron la actividad antioxidante del extracto etanólico de la especie *Taraxacum officinale* (diente de león) y del aceite esencial de la especie *Minthostachys spicata* (q'eshua muña), mediante el método DPPH, con resultados de  $75.24\%$  a  $4\ \text{mg}/\text{mL}$  y  $73.60\%$  a  $32\ \text{mg}/\text{mL}$  respectivamente.

Huanqui A, 2019 (98) indica en su estudio que el aceite esencial de *Clinopodium Bolivianum* (Benth.) Kuntze "Cjuñuca" presento un  $92.738\%$  de inhibición de radical DPPH a una concentración de  $100\ \mu\text{g}/\text{mL}$  y  $70.745\%$  a  $12.5\ \mu\text{g}/\text{mL}$ . Cadillo K, 2020 (40) en su estudio usa como muestra el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayan y obtiene que a  $31.3\ \mu\text{g}/\text{mL}$  resulta un  $67.76\%$  de inhibición de radical DPPH, y a  $3.9\ \mu\text{g}/\text{mL}$  resulta un  $8.48\%$

El ensayo antioxidante de DPPH se basa en la reacción de DPPH al aceptar un electrón donado y cambiar de color, siendo medida cuantitativamente por la disminución de absorbancia, usualmente estas plantas poseen una amplia variedad de moléculas secuestrantes de radicales libres como lo polifenoles, los cuales determinan en gran o menor medida la capacidad antioxidante. En comparación con los estudios previos, se observa que la respuesta frente a la combinación de estos dos aceites esenciales, mejora según la concentración de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), ya que el aceite solo sin combinarse presenta una buena capacidad antioxidante para el ensayo DPPH, lo que se atribuye a la composición química presente individualmente de cada planta, según los datos obtenidos mediante la cromatografía de gases, *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) contiene compuestos oxigenados de carácter polar los cuales se relacionan bien con el medio del ensayo DPPH, dando como resultado buena capacidad antioxidante.

FIGURA N° 6. Relación de la concentración con el porcentaje de inhibición de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán).



Fuente: Elaboración propia 2024

### Análisis e interpretación de resultados

En la Figura N°6 se observa los Blends formulados con los porcentajes de inhibición del radical DPPH más resaltantes, se observa que en el Blend 1 con las concentraciones de 0 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 100 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), se obtiene un mínimo porcentaje de inhibición de 23.50% y en el Blend 9 con las concentraciones de 100 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 0 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), se obtiene un máximo porcentaje de inhibición de 89.88%, considerando que ambos Blends están compuestos por 1 solo aceite. Se observa también que el Blend 5 compuesto por un 50/50 µg/mL de concentración de ambos aceites tiene un porcentaje de inhibición de 83.50%.

En el estudio de Olivera L y Gutierrez E, 2021 (42) se observa que el aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), presenta porcentajes de inhibición dependientes de la concentración del extracto 73.60% a una concentración de 32 mg/mL y 29.10% a 0.5 mg/mL, es decir a mayor concentración mayor capacidad antioxidante y viceversa.

En relación al presente estudio, la respuesta individual de cada uno de los dos aceites esenciales evidencia capacidad antioxidante, aunque se observa mejor en el aceite

esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) dependiendo de su concentración, resaltando también la importancia de la cantidad de compuestos bioactivos presentes en cada planta, los cuales confieren las bioactividades en ellas.

TABLA N° 17. Análisis de varianza de la Capacidad Antioxidante por el método DPPH de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	15265.486	8	1908.186	251936.506	0.000
<b>Dentro de grupos</b>	0.136	18	0.008		
<b>Total</b>	15265.622	26			

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS25

#### Análisis e interpretación de resultados

- Sig.  $\leq 0.05$  nos indican que existen diferencias estadísticamente significativas
- Sig.  $> 0.05$  nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas
- Hipótesis nula ( $H_0$ ) = Tienen una capacidad antioxidante similar.
- Hipótesis alterna ( $H_1$ ) = No tienen una capacidad antioxidante similar.

En la Tabla N°17 se observa los resultados del test ANOVA de los porcentajes de inhibición del radical DPPH de los Blends, donde el valor de significancia (sig.) es 0.00 que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos, por tanto se rechaza la hipótesis nula de que las concentraciones de los Blends tienen una capacidad antioxidante similar, y se acepta la hipótesis alterna, por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existen estas diferencias.

Según Olivera L y Gutierrez E, 2021 (42), en su estudio sobre el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), hace uso del análisis de varianza de un factor ANOVA, donde reporta el valor de significancia  $P=0.00$ , resultado que indica que existen diferencias estadísticamente significativas, consecuentemente realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existen estas diferencias.

TABLA N°18. Prueba Post Hoc de Tukey para la Capacidad antioxidante por el método DPPH de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

Post Hoc de Tukey										
Blends	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	3	23.4600								
2	3		33.1267							
3	3			72.3800						
4	3				75.7100					
5	3					83.5867				
6	3						86.8800			
7	3							87.1700		
8	3								89.5000	
9	3									89.8800
<b>Sig.</b>		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS25

### Análisis e interpretación de resultados

En la Tabla N°18 se realizó la prueba de Post Hoc de Tukey sirve para determinar específicamente que medias difieren y cuales son homogéneas, para ello agrupa en subconjuntos de la media de los porcentajes de captación de radicales, obteniéndose en este caso 9 subconjuntos de los Blends formulados, cada uno con una significancia > 0.05 es decir no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada subgrupo, manteniendo la heterogeneidad entre la capacidad antioxidante de cada Blend con el ensayo DPPH.

Olivera L y Gutierrez E, 2021 (42), en su estudio hace uso de la prueba de Post Hoc de Duncan, prueba que se utiliza para establecer posibles diferencias con agrupaciones del mismo modo que Tukey. En contraste se observa que tampoco existe homogeneidad entre los promedios de los porcentajes de inhibición de la capacidad antioxidante de cada concentración de los Blends con el ensayo DPPH. Cada Blend mantiene un comportamiento distinto.

#### 4.4.3. Capacidad antioxidante por el método de ABTS de los Blends formulados

TABLA N° 19. Absorbancia y porcentaje de inhibición por el método ABTS de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

MEZCLA	CONCENTRACIÓN (µg/mL)		ABSORBANCIA	% INHIBICIÓN
	<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	<i>Luma chequen</i> (Arrayán)		
1	0	100	0.076	89.143
2	6	94	0.055	92.143
3	13	87	0.051	92.714
4	25	75	0.049	93.000
5	50	50	0.049	93.000
6	75	25	0.051	92.714
7	87	13	0.046	93.429
8	94	6	0.045	93.571
9	100	0	0.048	93.143
<b>Abs (DPPH)</b>	1.080			

Fuente: Elaboración propia 2024

#### Análisis e interpretación de resultados

En la Tabla N° 19 se muestra los resultados de los valores de absorbancia obtenidos de las pruebas realizadas, para cada Blend formulado con los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), obteniéndose un máximo valor de inhibición de 93.57% en el Blend número 8 formulado con 94 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 6 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) y un mínimo valor de inhibición de 92.14% en el Blend número 2 formulado con 6 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 94 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), considerando que ambos Blends están compuestos por 2 aceites. Demostrando las variaciones de los resultados dependientes

de las concentraciones de aceites con las que se trabaja, aunque se utilicen los aceites esenciales individualmente.

En el estudio de Crespo Y, 2019 (39) se comprobó que el uso de los aceites esenciales en mezclas favorece la capacidad antioxidante, debido principalmente a su composición. Por otro lado, Teran R, 2014 (89) mostró que las mezclas de extractos con compuestos fenólicos presentaron una mejor capacidad antioxidante, retardando la formación de productos secundarios de la oxidación. Según Florez G y Florez E, 2024 (105) quienes observaron la actividad antioxidante de *Pleurotus djamor* mediante el ensayo ABTS, obtuvieron valores de 11.74% a 2 mg/mL, 32.01% a 3.25 mg/mL y 41.83% a 6.25 mg/mL, por lo tanto, existe una relación directamente proporcional, a mayor concentración mayor capacidad antioxidante y viceversa. Igualmente, en el estudio de Duran R, 2018 (104) se observa variaciones dependientes de la concentración del extracto con el que es trabajado. Además de reconocer la presencia de compuestos bioactivos, que favorecen los resultados esperados.

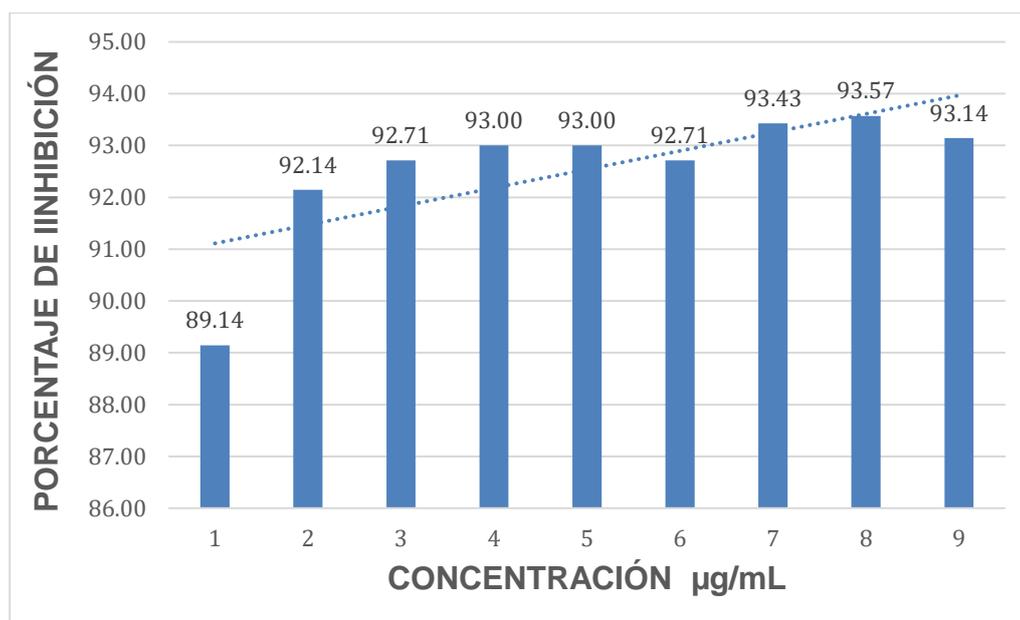
Obispo R, 2024 (106) indica en su estudio que el aceite esencial de *Clinopodium Bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" presentó una Media CI50 ( $\mu\text{g/mL}$ ) de  $40,125 \pm 1,25$  para inhibición de radical ABTS. Cadillo K, 2020 (40) en su estudio usa como muestra el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayan y obtiene que a 600  $\mu\text{g/mL}$  resulta un 84.54% de inhibición de radical ABTS, y a 100  $\mu\text{g/mL}$  resulta un 33,69%.

En el ensayo ABTS, la reducción del radical de ABTS ocurre por la eliminación de los radicales protónicos mediante la transferencia de electrones, caracterizada por una baja especificidad, permitiendo que reaccione con cualquier grupo hidroxilo sin que esto refleje necesariamente un alto potencial antioxidante.

La composición química de estas plantas determina su bioactividad, entre ellos resaltan los compuestos fenólicos. La capacidad antioxidante de compuestos fenólicos se debe a sus propiedades relacionadas con procesos redox, por las cuales pueden actuar como agentes reductores y donadores de hidrógeno. En contraste con los estudios previos, se observa que la respuesta frente a la combinación de estos dos aceites esenciales, mejora según la concentración de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), ya que el porcentaje de inhibición aumenta cuando este se encuentra en mayor cantidad, sin embargo, también se logra apreciar el aumento de respuesta ante el aumento de concentración del aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) en una de las combinaciones, lo que se atribuye a la composición química presente individualmente de cada planta, según los datos obtenidos mediante la cromatografía de gases, *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) contiene

compuestos oxigenados de carácter polar los cuales se relacionan bien con el medio hidroalcohólico del ensayo ABTS, dando como resultado la presencia de capacidad antioxidante. Se debe tomar en cuenta también que debido al tipo de muestra con la que se trabajó se puede subestimar la capacidad antioxidante real, ya que al ser aceites esenciales y ser inmiscibles en agua, se presentaron problemas de dispersión y turbidez en las soluciones analizadas.

FIGURA N° 7. Relación de la concentración con el porcentaje de inhibición de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán).



Fuente: Elaboración propia 2024

### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Figura N°7 se observa los Blends formulados con los porcentajes de inhibición del radical DPPH, se observa que en el Blend 1 con las concentraciones de 0 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 100 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), se obtiene un mínimo porcentaje de inhibición de 89.14% y en el Blend 9 con las concentraciones de 100 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y 0 µg/mL de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), se obtiene un valor cercano al máximo porcentaje de inhibición de 93.14%, considerando que ambos Blends están compuestos por 1 solo aceite. Se observa también que el Blend 5 compuesto por un 50/50 µg/mL de concentración de ambos aceites tiene un porcentaje de inhibición de 93%, que probablemente se deba a la combinación de los metabolitos secundarios de cada planta.

En el estudio de Duran R, 2018 (104) se observa que los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* (Musgo Blanco), presenta porcentajes de inhibición dependientes de la concentración del extracto 38.33% (EE40), 51.98% (EE70) 28.35% (EE90) y 45.90% (EM) a una concentración de 1mg/mL, es decir a mayor concentración mayor capacidad antioxidante y viceversa.

En relación al presente estudio, la respuesta individual de cada uno de los dos aceites esenciales evidencia capacidad antioxidante, aunque se observa mejor en el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) dependiendo de su concentración, resaltando también la importancia de la cantidad de compuestos bioactivos presentes en cada planta, los cuales confieren las bioactividades en ellas.

TABLA N° 20. Análisis de varianza para la Capacidad Antioxidante por el método ABTS de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	44.978	8	5.622	934.159	0.000
<b>Dentro de grupos</b>	0.108	18	0.006		
<b>Total</b>	45.086	26			

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS25

#### **Análisis e interpretación de resultados**

- Sig.  $\leq$  0.05 nos indican que existen diferencias estadísticamente significativas
- Sig.  $>$  0.05 nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas
- Hipótesis nula (Ho) = Tienen una capacidad antioxidante similar.
- Hipótesis alterna (H1) = No tienen una capacidad antioxidante similar.

En la Tabla N°20 se observa los resultados del test ANOVA de los porcentajes de inhibición del radical ABTS de los Blends, donde el valor de significancia (sig.) es 0.00 que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos, por tanto se rechaza la hipótesis nula, de que las concentraciones de los Blends tienen una capacidad antioxidante similar, y se acepta la hipótesis alterna. Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existen estas diferencias.

Según Fernandez LA, 2019 (95), en su estudio sobre el aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray (Arrayán), hace uso del análisis de varianza de un factor ANOVA, donde reporta el valor de significancia  $P=0.00$ , resultado que indica que existen diferencias estadísticamente significativas, posterior a ello realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existen estas diferencias.

TABLA N° 21. Prueba Post Hoc de Tukey para la Capacidad Antioxidante por el método ABTS de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

Post Hoc de Tukey						
Blends	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
1	3	89.0467				
2	3		92.2367			
3	3			92.7100		
6	3			92.7100		
4	3				92.9533	
5	3				92.9533	
9	3				93.1400	
7	3					93.4767
8	3					93.5700
<b>Sig.</b>		1.000	1.000	1.000	0.141	0.854

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS25

### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Tabla N°21 se realizó la prueba de Post Hoc de Tukey que muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los porcentajes de captación de radicales, obteniéndose en este caso 5 subconjuntos de los Blends formulados. Cada uno de los grupos de cada Blend, agrupan los porcentajes de captación de radicales donde no existen diferencias estadísticamente significativas con una significancia  $> 0.05$ , lo que indica que cada subgrupo mantiene un comportamiento distinto. En el grupo 1 y 2 se mantiene la heterogeneidad entre la capacidad antioxidante de cada Blend con el ensayo ABTS. A diferencia de los grupo 3, 4 y 5 donde se demuestra homogeneidad entre los demás Blends agrupados por el porcentaje similar de captación de radicales.

Fernandez LA, 2019 (95), en su estudio también hace uso de la prueba de Post Hoc de Tukey, donde se observa que los resultados se agrupan según la homogeneidad entre los promedios. De ello se afirma que las concentraciones del subgrupo 5 presenta

mayores porcentajes de inhibición de la capacidad antioxidante de cada concentración de los Blends con el ensayo ABTS.

#### 4.4.4. Comparación del porcentaje de inhibición de los Blends por los métodos DPPH y ABTS

TABLA N°22. Comparación del porcentaje de inhibición de los Blends formulados por los métodos DPPH (2,2 – difeni – 1 - picrilhidrazilo) y ABTS (2,2´-azinobis [3 – etil benzo tiazolina – 6 - ácido sulfónico]-sal de diamonio).

MEZCLA	CONCENTRACIÓN (µg/mL)		DPPH	ABTS
	<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	<i>Luma chequen</i> (Arrayán)	% INHIBICIÓN	% INHIBICIÓN
1	0	100	23.50	89.14
2	6	94	33.13	92.14
3	13	87	72.38	92.71
4	25	75	75.63	93.00
5	50	50	83.50	93.00
6	75	25	86.88	92.71
7	87	13	87.13	93.43
8	94	6	89.50	93.57
9	100	0	89.88	93.14

Fuente: Elaboración propia 2024

#### Análisis e interpretación de resultados

En la Tabla N°22 se observó la comparación de los resultados obtenidos al usar los métodos DPPH y ABTS, con las diferentes concentraciones de los Blends. Los porcentajes de inhibición varían desde 33.13% hasta 89.88% para el método DPPH y desde 89.14% hasta 93.57% para el método ABTS.

Duran R, 2018 (104) en su estudio replica también ambos métodos, donde se observa que los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* (Musgo Blanco) tienen actividades comparables por ambos métodos.

Contrastando los estudios realizados y los previos, los Blends evaluados tienen capacidades comparables por ambos métodos, es decir ambos son reproducibles para medir la capacidad antioxidante de muestras de aceites esenciales. Sin embargo, se observaron resultados diferenciables entre el método ABTS con el método DPPH, ya que en ambos ensayos por su fundamento se emplean muestras con ciertas características que garantizan su replicación con mejores resultados.

Los resultados demuestran que para todos los Blends los valores obtenidos en el ensayo con ABTS son mayores que en el ensayo con DPPH, debido a la reactividad del catión  $ABTS^{\bullet+}$  que presenta baja selectividad, y puede reaccionar con cualquier grupo hidroxilo lo cual no necesariamente representa un alto potencial antioxidante, y se puede subestimar los resultados reales.

#### 4.5. Determinación de la Capacidad Antifúngica

Capacidad antifúngica in vitro de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) frente a cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521.

TABLA N° 23. Diámetros de los halos de inhibición realizado a los diferentes Blends formulados

Mezcla BLEND	CONCENTRACIÓN (µg/mL)		DIÁMETROS DE HALOS DE INHIBICIÓN (mm) EN CEPAS ATCC DE <i>Malassezia furfur</i>			
	<i>Satureja boliviana</i> (Khuñu Muña)	<i>Luma chequen</i> (Arrayán)	1 GRUPO	2 GRUPO	3 GRUPO	PROMEDIO
Blend 1	0	100	14.3	14.1	15.35	14.58
Blend 2	6	94	16.5	22.02	17.3	18.61
Blend 3	13	87	20.2	16.3	14.23	16.91
Blend 4	25	75	21.4	19.2	24.48	21.69
Blend 5	50	50	15.34	14.1	12.75	14.06
Blend 6	75	25	21.15	28.46	20.35	23.32
Blend 7	87	13	17.45	13.05	20.42	16.97
Blend 8	94	6	24.1	30.4	24.1	26.2
Blend 9	100	0	16.12	17.3	18.15	17.19
Fluconazol	25 µg		6.18	6.22	6.19	6.20
Terbinafina	25 µg		6.14	6.12	6.15	6.14

Fuente: Elaboración propia 2024

#### Análisis e interpretación de resultados

En la Tabla N°23 se observa los halos de inhibición obtenidos en pruebas por triplicado, de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) por separado, demostrando que se obtuvieron halos mínimos 17.19mm y 14.58mm

individualmente. Además, se aprecia que el Blend 5 presenta un halo mínimo de inhibición de 14.06mm formulado con 50/50 µg/mL de los aceites esenciales, y el máximo halo de inhibición 26.2mm que contiene 96 µg/mL y 6 µg/mL de los aceites esenciales como se observa en la Tabla N°23. Además, se observa que el Fluconazol y Terbinafina probados como control positivo, mostraron ineficacia antifúngica contra la cepa *Malassezia furfur* ATCC 14521 con halos mínimos de 6.20 y 6.14 mm respectivamente, y en el control negativo no se observaron efectos. Demostrando las variaciones de los resultados dependientes de las concentraciones de aceites con las que se trabaja.

La proporción de compuestos bioactivos que posee cada aceite permite, que estos ya sea en conjunto o independientemente tengan una buena capacidad antifúngica, como se menciona en el estudio de Benamar A, 2024 (38), siendo que las mezclas binarias de aceites esenciales de *Artemisia campestris* y *Artemisia herba alba* tuvieron actividad frente a organismos microbianos como *C. albicans* con 9.37mm, a diferencia del estudio presentado por Cabrera C, 2020 (13) que uso 4 compuestos en la mezcla de extracto de semillas de *Citrus paradisi* (Toronja), aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán), aceite esencial de *Cymbopogon citratus* (Hierba luisa) y aceite esencial de *Melaleuca alternifolia* (Árbol del té), que obtuvo  $10,33 \pm 0,47$ mm y el aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) individualmente  $13,33 \pm 0,47$  mm frente a *C. albicans*. Merma C, 2017 (96) menciona que aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Cjuñuca) presenta actividad antimicótica frente a *T. rubrum* con 14.72 mm de diámetro promedio de los halos de inhibición a la concentración de 150 mg/ µL, y 6 mm frente al disco de sensibilidad de Fluconazol 25µg.

En el estudio de Jauregui S. 2018 (107) sobre “Evaluación de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico in vitro de la raíz tuberosa de Sacha Paraccay (*Colignonia parviflora* var. *biumbellata* Rafinesque) frente a *Malassezia furfur* cepa ATCC 14521 y formulación de champú anticaspas” obtuvo 18 mm de diámetro promedio de los halos de inhibición a la concentración de 80 mg/50µL de su extracto hidroalcohólico, y 49 mm de diámetro promedio frente al disco de sensibilidad de Ketoconazol 15µg.

Las plantas estudiadas, no cuentan con antecedentes frente al hongo *Malassezia furfur*, por lo que no se cuenta con una comparación precisa, sin embargo, entre los compuestos químicos presentes en los aceites esenciales de nuestras especies, se encuentran compuestos bioactivos que poseen propiedades hidrofóbicas, solubles, y sus grupos funcionales pueden potenciarse, permitiendo que en combinación se obtenga mejor capacidad antimicótica frente a especies como *Malassezia furfur*. Por lo tanto, se comprueba que la combinación de los aceites esenciales mejora la respuesta de capacidad antifúngica, se observa un potencial sinergismo, cuando se aumenta la

concentración de uno de los dos aceites esenciales usados. La alteración en la respuesta de los patrones usados donde se observó diámetros muy pequeños, se relaciona con la mala manipulación u otros factores, ya que en estudios previos se puede evidenciar su efecto antifúngico frente a otras cepas como *T. rubrum* o *C. albicans*, además que el Agar Sabouraud Dextrosa tiene componentes los cuales pueden interferir con los patrones usados, aun dándose este resultado para los patrones, los resultados obtenidos para los Blends son comparables con los obtenidos en estudios similares sobre capacidad antifúngica.

TABLA N° 24. Análisis de varianza para la Capacidad Antifúngica de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

ANOVA					
	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>Entre grupos</b>	399.911	8	49.989	5.979	0.001
<b>Dentro de grupos</b>	150.488	18	8.360		
<b>Total</b>	550.399	26			

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS25

#### **Análisis e interpretación de resultados**

- Sig.  $\leq$  0.05 nos indican que existen diferencias estadísticamente significativas
- Sig.  $>$  0.05 nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas
- Hipótesis nula ( $H_0$ ) = Tienen una capacidad antifúngica similar.
- Hipótesis alterna ( $H_1$ ) = No tienen una capacidad antifúngica similar.

En la Tabla N°24 se observa los resultados del test ANOVA de los halos de inhibición de los Blends, donde el valor de significancia (sig.) es 0.00 que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos, por tanto se rechaza la hipótesis nula, de que las concentraciones de los Blends tienen una capacidad antifúngica similar, y se acepta la hipótesis alterna.

Según Merma C, 2017 (96), en su estudio sobre el aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Cjuñuca), hace uso del análisis de varianza de un factor ANOVA, donde reporta el valor de significancia  $P=0.00$ . Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Tukey para determinar entre que grupos existen estas diferencias.

TABLA N° 25. Prueba Post Hoc de Tukey para la Capacidad Antifúngica de los Blends formulados de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

Post Hoc de Tukey					
Blends	N	Subconjunto para alfa = 0.05			
		1	2	3	4
5	3	14.0633			
1	3	14.5833			
3	3	16.9100	16.9100		
7	3	16.9733	16.9733		
9	3	17.1900	17.1900		
2	3	18.6067	18.6067	18.6067	
4	3		21.6933	21.6933	21.6933
6	3			23.3200	23.3200
8	3				26.2000
Sig.		0.103	0.083	0.074	0.086

Fuente: Valores brindados por el programa estadístico SPSS25

#### **Análisis e interpretación de resultados**

En la Tabla N°25 Se llevó a cabo la prueba de Post Hoc de Tukey, que evidencia las equivalencias de medias entre rangos. Esta prueba lleva a cabo la agrupación en subconjuntos de la media de los halos de inhibición. En este escenario, se lograron 4 subconjuntos de los Blends formulados, cada uno con una significancia mayor a 0.05, eso indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada grupo. Se observa que dentro de los 4 grupos, las diferentes concentraciones de los Blends presentan homogeneidad respecto al tamaño promedio de los halos de inhibición.

Merma C, 2017 (96), en su estudio también hace uso de la prueba de Post Hoc de Tukey con agrupaciones del mismo modo, observandose homogeneidad entre los promedios de los halos de inhibición a bajas concentraciones. Confirmando que el aceite esencial de la especie *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) en combinación con el de *Luma chequen* (Arrayán), presentan capacidad antifúngica frente a cepas de *Malassezia furfur* ATCC 14521 en las diferentes concentraciones, y se observa un potencial sinergismo por parte de ambos aceites sobre el otro.

## CONCLUSIONES

1. Los Blends de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) presentaron capacidad antioxidante y antifúngica en las diferentes concentraciones tomadas para los Blends, sin embargo, sólo se pudo verificar sinergismo de los aceites en la capacidad antifúngica frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521.
2. Ambos aceites tuvieron un porcentaje de rendimiento dentro de los límites establecidos para los aceites esenciales, pero se necesita una buena cantidad de material vegetal para poder extraer suficiente aceite. En cuanto a la prueba de solubilidad de los aceites, el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña), es muy soluble en metanol absoluto, etanol 96%, acetona, éter etílico y cloroformo, y totalmente inmiscible en agua y metanol al 80%, igualmente el aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) es muy soluble en metanol absoluto, etanol 96%, acetona, éter etílico y cloroformo y muy poco soluble en etanol 70%, e inmiscible en agua y metanol al 80%, por ello ambos aceites se consideran de polaridad intermedia.
3. Mediante la cromatografía de gases se encontró compuestos oxigenados, fenólicos, hidrocarburos aromáticos, alcoholes terpénicos, siendo los anillos aromáticos principalmente a los cuales les atribuimos el característico olor de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán). El aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) contiene en mayor cantidad Carvacril acetato, otros compuestos oxigenados y algunos hidrocarburos, mientras que *Luma chequen* (Arrayán) contiene en mayor cantidad Alfa-pineno, otros hidrocarburos y algunos compuestos oxigenados.
4. Los Blends formulados presentan capacidad antioxidante, especialmente los que contienen en mayor proporción el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) lo que se atribuye a la composición química presente individualmente de cada planta, según los datos obtenidos mediante la cromatografía de gases, la determinación de la capacidad antioxidante se puede replicar por ambos métodos tanto DPPH como ABTS, sin embargo, se debe tomar en cuenta el medio de los ensayos.
5. Las diferentes concentraciones de los Blends formulados de los aceites esenciales presentan capacidad antifúngica frente a la cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521, se observa un potencial sinergismo cuando se aumenta la concentración de uno de los dos aceites esenciales, obteniendo una mejor respuesta en los que contienen en mayor proporción el aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña).
6. Todos los Blends formulados presentaron capacidad antioxidante y antifúngica, siendo el Blend 8 formulado con 94 µg/mL de aceite esencial de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña)

y 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de aceite esencial de *Luma chequen* (Arrayán) uno de los que mejores resultados se obtiene.

## SUGERENCIAS

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

- Mejorar los equipos y ambientes de los laboratorios para facilitar la realización de investigaciones experimentales.
- Incentivar la investigación en los estudiantes frente a la diversidad de plantas autóctonas de nuestra región con aplicaciones en salud.

### **A los Docentes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

- Ofrecer continuo respaldo y ayuda a los alumnos que están en la etapa de creación de proyectos de investigación y tesis, tanto en la gestión y cuidado de los equipos y reactivos, como en los métodos de investigación.

### **A los Estudiantes de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**

- Innovar en cuanto a proyectos referidos a la determinación de efectos potencialmente terapéuticos de uso tradicional de especies vegetales de nuestra región que están quedando olvidadas.
- Realizar un análisis más específico de los metabolitos secundarios presentes en los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), con el fin de evaluar el mecanismo de acción responsable de la capacidad antioxidante y antifúngica.
- Determinar la toxicidad de los Blends de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), para establecer dosis que permitan su uso clínico.
- Desarrollar formulaciones farmacéuticas usando Blends de los aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán), para uso clínico e industrial como antioxidantes o tratamientos frente a cepas como *Malassezia furfur* ATCC 14521.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Brack A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú [Internet]. de Estudios Regionales Andinos C, editor. Cusco: Centro Bartolomé de Las Casas CBC; 1999 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://cbc.org.pe/producto/diccionario-enciclopedico-de-plantas-utiles-del-peru/>
2. Tisserand R. El arte de la aromaterapia. Paidós, editor. Avda. Diagonal, 662-664. 08034 Barcelona, España: Ediciones Paidos Iberica; 1995.
3. Raskin AD. Aceites Esenciales Guía de Referencia. Raskin AD, editor. 19-20 Bourne Court, Southend Road, Woodford Green Essex, UK IG8 8HD: GreatBookPricesUK; 2020.
4. Benitez Estrada A, Villanueva Sánchez J, Guillermina GR, Alcántar Rodríguez VE, Rubén PD, Quintero Gutiérrez AG. Determinación de la capacidad antioxidante total de alimentos y plasma humano por fotoquimioluminiscencia: Correlación con ensayos fluorométricos (ORAC) y espectrofotométricos (FRAP). TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, [Internet]. 2020 [citado el 19 de diciembre de 2024];23(05/03/2021):1–9. Disponible en: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1405-888X2020000100103&lng=es&nrm=iso&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1405-888X2020000100103&lng=es&nrm=iso&tlng=es)
5. Torres E, Arenas A, Atoche Diéguez C. Infecciones causadas por el género *Malassezia*. Med Cutan Iber Lat Am [Internet]. 2008 [citado el 19 de diciembre de 2024];36(6):265–84. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cutanea/mc-2008/mc086b.pdf>
6. de la Salud OM. Medicina tradicional [Internet]. Who.int. 18 de febrero de 2025 [citado el 11 de abril de 2025]. Disponible en: <http://who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/biodiversity>
7. Huayllani Cuti E, Puma Ruiz J. Nivel de conocimientos de plantas medicinales andinas en los estudiantes de la institucion educativa N° 56121 Quehue Canas. Cusco. 2021 [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2022 [citado el 11 de abril de 2024]. Disponible en: [https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6350/253T20220045\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/6350/253T20220045_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
8. Huamantupa I, Cuba M, Urrunaga R, Paz E, Ananya N, Callalli M, et al. Riqueza, uso y origen de plantas medicinales expendidas en los mercados de la ciudad del Cusco. Revista Peruana de Biología [Internet]. 2012 [citado el 19 de diciembre de 2024];18(3):283–91. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1727-99332011000300004](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332011000300004)

9. Urrunaga Soria R, Urrunaga Soria E, Acurio Usca L. Investigación de la Satureja Boliviana - Planta medicinal andina. SITUA [Internet]. 1995 [citado el 19 de diciembre de 2024];3(5). Disponible en: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/situa/1995\\_n5/satureja.htm](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/situa/1995_n5/satureja.htm)
10. Carbajal Ocaña DP, Condori Rojas CL. Revisión sistemática de los componentes fitoquímicos y usos medicinales de *Clinopodium bolivianum* Kuntze (inca muña) de abril a junio, 2021 [Tesis de Pregrado]. Lima: Universidad María Auxiliadora; 2023 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/1691>
11. Murray RK, Bender DA, Botham K, Kennelly PJ, Rodwell VW, Weil PA. Harper. Bioquímica ilustrada. Editores M-HI, editor. Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Col. Desarrollo Santa Fe, Delegación Álvaro Obregón C.P. 01376, México, D.F: The McGraw-Hill Companies, Inc; 2013.
12. Marín Muñoz I. Actividad antioxidante y antibacteriana de aceites esenciales ecológicos de hinojo, perejil y lavanda [Tesis de Maestría]. Orihuela - España: Universidad Miguel Hernandez; 2015 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/5385/1/TFM%20Mar%C3%ADn%20Mu%C3%B1oz%2C%20Irene.pdf>
13. Cabrera García CE. Desarrollo de un sistema conservante con base de un extracto natural y tres aceites esenciales en la formulación de emulsiones cosméticas [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2020 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/12522>
14. Crespo-Erchiga V, Guého E. Superficial mycoses due to *Malassezia* species and *Piedraia hortae*. Clin Microbiol Rev. 2005 [citado el 28 de mayo de 2025];18(1):65–96.
15. Ashbee HR. Update on the genus *Malassezia*. Med Mycol. 2007 [citado el 28 de mayo de 2025];45(4):287–303.
16. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. Food Chem Toxicol. 2008 [citado el 28 de mayo de 2025];46(2):446–75.
17. Bassolé IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. Molecules. 2012 [citado el 28 de mayo de 2025];17(4):3989–4006.
18. Nazzaro F, Fratianni F, De Martino L, Coppola R, De Feo V. Effect of essential oils on pathogenic bacteria. Pharmaceuticals. 2013 [citado el 28 de mayo de 2025];6(12):1451–74.

19. Waller SB, Bernardi T, de Avila Bertolazzi LG, et al. Antimicrobial activity of the essential oil of *Satureja montana* against *Candida* spp. and dermatophytes. *J Med Microbiol*. 2017 [citado el 28 de mayo de 2025];66(5):564–71.
20. Torres R, Montenegro G. Antimicrobial and antioxidant activity of *Luma chequen* (Myrtaceae). *Rev Chilena Infectol*. 2011 [citado el 28 de mayo de 2025];28(2):122–6.
21. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson E. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. 2nd ed. Elsevier Health Sciences; 2012.
22. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*. 2008 [citado el 28 de mayo de 2025];51(Suppl 4):2–15.
23. Gupta AK, Kohli Y. Prevalence of *Malassezia* species on clinically normal and lesional skin of patients with psoriasis. *Can J Microbiol*. 2003 [citado el 28 de mayo de 2025];49(11):761–6.
24. WHO. *Traditional Medicine Strategy 2014–2023*. Geneva: World Health Organization; 2013.
25. Bodeker G, Ong CK, Grundy C, Burford G, Shein K. *WHO Global Atlas of Traditional, Complementary and Alternative Medicine*. Geneva: WHO; 2005.
26. Naciones Unidas. *Agenda 2030 para el Desarrollo Sostenible*. 2015. Disponible en: <https://sdgs.un.org/goals>
27. CLSI. *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. Approved Standard M27-A3*. 3rd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
28. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Sci Technol*. 1995 [citado el 28 de mayo de 2025];28(1):25–30.
29. Lima TC, Silva FL, Barbosa-Filho JM, Oliveira RG, Medeiros JRB, de Sousa DP. Antifungal activity of the essential oil from *Lippia sidoides* and its main compound thymol. *Molecules*. 2012 [citado el 28 de mayo de 2025];17(6):7083–93.
30. Barquero AA. *Plantas sanadoras: pasado, presente y futuro*. *QuímicaViva* [Internet]. 2007 [citado el 19 de diciembre de 2024];3(2):1–19. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/863/86360203.pdf>
31. Tech GB. *Historical evolution and cultural significance of medicinal plants* [Internet]. Tech GB, editor. Corea del Sur; 2024 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en:

[https://www.greenskybio.com/plant\\_extract/historical-evolution-and-cultural-significance-of-medicinal-plants.html?form=MG0AV3](https://www.greenskybio.com/plant_extract/historical-evolution-and-cultural-significance-of-medicinal-plants.html?form=MG0AV3)

32. Cortez Gallardo V, Macedo Ceja JP, Hernández Arroyo M, Arteaga Aureoles G, Espinosa Galván D, Rodríguez Landa JF. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. *Rev Biomed* [Internet]. 2004 [citado el 19 de diciembre de 2024];15(2):123–136. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/237499145\\_Farmacognosia\\_breve\\_historia\\_de\\_sus\\_origenes\\_y\\_su\\_relacion\\_con\\_las\\_ciencias\\_medicas](https://www.researchgate.net/publication/237499145_Farmacognosia_breve_historia_de_sus_origenes_y_su_relacion_con_las_ciencias_medicas)
33. de la Salud OM. Medicina tradicional [Internet]. *Who.int*. 9 de agosto de 2023 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/questions-and-answers/item/traditional-medicine>
34. Benamar Aissa B, Gourine N, Quinten M, Yousfi M. Efectos sinérgicos de aceites esenciales y extractos fenólicos sobre las respuestas de las actividades antioxidantes utilizando dos especies de *Artemisia* (*A. campestris* y *A. herba alba*) combinadas con *Citrus aurantium*. *Biomol Concepts* [Internet]. 2024;47(1):59–76. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1878818122002973>
35. Mamadalieva NZZ, Akramov DKK, Wessjohann LAA, Hussain H, Largo C, Tojibaev CSS, et al. El género *Lagochilus* (Lamiaceae): una revisión de su diversidad, etnobotánica, fitoquímica y farmacología. *PubMed* [Internet]. 11 de enero del 2021;10(1):132. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33440727/>
36. Salcedo Ríos MA, Alonso JR. *Satureja boliviana* (Lamiaceae). Una puesta al día de “muña blanca”. *Domingue* [Internet]. el 12 de marzo de 2021 [citado el 19 de diciembre de 2024];37(2):5–12. Disponible en: <https://www.dominguezia.org/volumen/articulos/37201.pdf>
37. Castillo JMHÓ, editor. *Pachamama hampi qhoranchiskuna* (Las plantas medicinales de nuestra madre tierra). Experiencias sobre cultivo ecológico de plantas medicinales y aromas en el valle sagrado de los incas, Cusco-Perú [Internet]. Instituto de ecología y plantas medicinales; 2008 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.cabidigitallibrary.org/doi/pdf/10.5555/20073072170>
38. Benamar Aissa B, Gourine N, Quinten M, Yousfi M. Synergistic effects of essential oils and phenolic extracts on antimicrobial activities using blends of *Artemisia campestris*, *Artemisia herba alba*, and *Citrus aurantium*. *Biomol Concepts* [Internet]. 1 de enero de 2024 [citado 15 de diciembre de 2024];15(1). Disponible en: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/bmc-2022->

0040/html?lang=en&srsId=AfmBOopzZD79fAUTmKrLroOI4I5K8maATKybl\_7B3\_n\_ZyCH3G1qRBZf

39. Crespo YA, Bravo Sánchez LR, Quintana YG, Cabrera AST, Bermúdez Del Sol A, Mayancha DMG. Evaluation of the synergistic effects of antioxidant activity on mixtures of the essential oil from *Apium graveolens* L., *Thymus vulgaris* L. and *Coriandrum sativum* L. using simplex-lattice design. *Heliyon* [Internet]. 2019;5(6):e01942. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e01942>
40. Cadillo Espinoza KY. Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray “Arrayan” [Tesis de Pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2020. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/item/dd7dc61d-40f1-46cb-95b4-ffe20654e494>
41. Castillo Andamayo D. Evaluación de la actividad antifúngica del gel de Satureja brevicalyx Epling “Inca Muña” frente a *Candida* spp. de pacientes portadores de prótesis [Tesis Doctoral]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2017 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/6702>
42. Olivera Delgado LI, Gutierrez Felix EG. Evaluación de la actividad antimicrobiana “In vitro” sobre cuatro cepas ATCC y determinación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña) [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2021 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5580>
43. Carrasco V, Carlos. J. Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente *Trichophyton rubrum* ATCC 28188 [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4657>
44. Solis Quispe L, Solis- uispe JA, Aragon Alencastre LJ, Fernández MD, Hernández I, Rodeiro I, et al. Composición química y actividad antioxidante de aceites esenciales de *Tanacetum vulgare* y *Mentha x piperita* L. var. *vulgaris* cultivados en Cusco. *Revista CENIC* [Internet]. 2017 [citado el 19 de diciembre de 2024];48(1):41–7. Disponible en: <https://www.redalyc.org/journal/1816/181654080007/movil/>
45. Ouedrhiri W, Balouiri M, Bouhdid S, Moja S, Chahdi FO, Taleb M, et al. Mixture design of *Origanum compactum*, *Origanum majorana* and *Thymus serpyllum* essential oils:

- Optimization of their antibacterial effect. *Ind Crops Prod* [Internet]. 2016 [citado el 19 de diciembre de 2024]; 89:1–9. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.04.049>
46. Torres Chati J, Leon Quispe J, Tomas Chota G. Actividad antibacteriana y antifúngica de extractos de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán” frente a patógenos de origen clínico. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.* [Internet]. 2017 [citado el 19 de diciembre de 2024];37(1):10–6. Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_abstract&pid=S1315-25562017000100004&lng=es&nrm=i](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1315-25562017000100004&lng=es&nrm=i)
47. Fernández Rebaza GA, Balladares Quintana AD. Caracterización de flavonoides y actividad antimicrobiana del extracto metanólico de hojas de Luma chequen (Molina) A. Gray. *An Fac med* [Internet]. 2024 [citado el 19 de diciembre de 2024];85(A):398-406. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v85n4/1025-5583-afm-85-04-398.pdf>
48. Farfan Salas Y, Santos Valer R. Actividad antibacteriana del aceite de luma chequen (arrayan) frente a salmonella spp aisladas de cuyes del distrito de quiquijana; [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2016 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/2663/253T20160270\\_TC.pdf?sequence=3&isAllowed=y](https://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/2663/253T20160270_TC.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
49. Gutiérrez Ambrosio DS. Efecto de la crema dérmica de Luma chequen “arrayán” en la cicatrización de heridas de ratones albinos cepa Balb C 53 Huacho - 2016; [Tesis de Pregrado]. Huacho: Universidad Alas Peruanas; 2016 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://repositorio.uap.edu.pe/jspui/bitstream/20.500.12990/424/1/Tesis\\_Efecto\\_De\\_La\\_Crema\\_D%C3%A9rmica\\_De\\_Luma\\_Chequen.pdf](https://repositorio.uap.edu.pe/jspui/bitstream/20.500.12990/424/1/Tesis_Efecto_De_La_Crema_D%C3%A9rmica_De_Luma_Chequen.pdf)
50. Carhuapoma M, Bonilla P, Suarez S. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de Luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán”. *Ciencia e Investigación* [Internet]. 2005 [citado el 19 de diciembre de 2024];8(2). Disponible en: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v08\\_n2/PDF/a02v8n2.pdf](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v08_n2/PDF/a02v8n2.pdf)
51. Tránsito López Luengo M. Los aceites esenciales aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. *Dialnet* [Internet]. 2004 [citado el 19 de diciembre de 2024];23(7):88–91. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5325192>
52. Nagarjuna Reddy D, editores. Aceites esenciales extraídos de plantas medicinales y sus aplicaciones. [Internet]. 1 ed. Springer, Singapur: Compuestos bioactivos naturales.; 2019 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en:

[https://www.researchgate.net/publication/335671774\\_Essential\\_Oils\\_Extracted\\_from\\_Medicinal\\_Plants\\_and\\_Their\\_Applications](https://www.researchgate.net/publication/335671774_Essential_Oils_Extracted_from_Medicinal_Plants_and_Their_Applications)

53. Rodriguez Alvarez M, Alcaraz Melendez L, Real Cosio S, editores. Procedimientos para la extracción de aceites esenciales en plantas aromáticas. [Internet]. 1 ed. México: Centro de Investigaciones Biológicas del Noreste, S.C; 2012 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez\\_m.pdf](https://cibnor.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1001/540/1/rodriguez_m.pdf)
54. Casanovas RV, editor. Aceites esenciales y estado de ánimo [Internet]. Vol. 18. Universidad de Barcelona; 2019 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/159478/1/697665.pdf>
55. Cimino C, Maurel OM, Musumeci T. Aceites esenciales: aplicaciones farmacéuticas y estrategias de encapsulación en sistemas de administración basados en lípidos. *Pharmaceutics*. [Internet]. 03 de marzo 2021 [citado el 19 de diciembre de 2024];13(3):327. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8001530/>
56. Villaverde IC. Optimización de la extracción de aceites esenciales por destilación en corriente de vapor [Tesis de Pregrado]. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid; 2018 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://oa.upm.es/49669/1/TFG\\_IRENE\\_CASADO\\_VILLAVERDE.pdf](https://oa.upm.es/49669/1/TFG_IRENE_CASADO_VILLAVERDE.pdf)
57. Giusiano G. Malassezia: Estado del conocimiento y perspectivas en su estudio. *Revista Argentina De Microbiología* [Internet]. 2006 [citado el 19 de diciembre de 2024];38(1):41–8. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213016797012.pdf>
58. Mussin JE. Síntesis de Nanopartículas de Plata a Partir de un Extracto Vegetal y Evaluación, de su Actividad Inhibitoria in Vitro Frente a Malassezia Spp; [Tesis de Maestría]. Argentina: Universidad Nacional del Nordeste; 2020 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/27823/RIUNNE\\_FMED\\_TM\\_Mussin\\_JE.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unne.edu.ar/bitstream/handle/123456789/27823/RIUNNE_FMED_TM_Mussin_JE.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
59. Ochoa de Quinzada MM. Estudio de las especies de Malassezia, relacionadas con la patología cutánea, pitiriasis versicolor en Panamá [Tesis Doctoral]. Panamá: Universidad de Granada; 2006 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/1327/1645778x.pdf;jsessionid=1C77D665EB23C3B4231FE8C9F123BAC4?sequence=1>
60. Zurita Macalupú S, Urcia Ausejo F, Navarro Mariñas A, editores. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico. [Internet]. 1 ed. Perú: Ministerio de Salud, Instituto

- Nacional de Salud; 2017 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <http://bvs.minsa.gob.pe/local/MINSA/4533.pdf>
61. Clavijo AS, Florez AO, Cardona CM. Pitiriasis versicolor: variantes cromáticas, morfológicas y topográficas de interés clínico. Medigraphic [Internet]. 2021 [citado el 19 de diciembre de 2024];19(1):47–51. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2021/dcm211k.pdf>
  62. Arteaga MJH, Larrea ESK, Cedeño LNC, Ormazá LGC. Sintomatología y tratamiento de la dermatitis seborreica. Recimundo [Internet]. el 11 de marzo de 2020 [citado el 19 de diciembre de 2024];4(4):330–6. Disponible en: <https://www.recimundo.com/index.php/es/article/view/956>
  63. Malbrán C. Método de determinación de sensibilidad antimicrobiana por difusión [Internet]. INEI-ANLIS, editor. Servicios antimicrobianos; 2012 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/02-METODO\\_DE\\_DETERMINACION\\_DE\\_SENSIBILIDAD\\_ANTIMICROBIANA\\_POR\\_DIFUSION\\_2012.pdf](http://antimicrobianos.com.ar/ATB/wp-content/uploads/2012/11/02-METODO_DE_DETERMINACION_DE_SENSIBILIDAD_ANTIMICROBIANA_POR_DIFUSION_2012.pdf)
  64. Jamanca Gonzales NC, Alfaro Cruz S, editores. Antioxidantes en los alimentos. [Internet]. 1 ed. Perú: Universidad Nacional de Barranca, Escuela de Ingeniería en Industrias Alimentarias; 2017 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unab.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/b62c12d2-cdde-4842-922f-d33e20d5457d/content>
  65. Guija Poma E, Inocente Camones M, Ponce Pardo J, Zarzosa Norabuena E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horiz méd [Internet]. 2015 [citado el 19 de diciembre de 2024];15(1):57–60. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2015.v15n1.08>
  66. Halliwell B, Gutteridge JMC. Free Radicals in Biology and Medicine. 5th ed. Oxford: Oxford University Press; 2015.
  67. Rice-Evans C, Miller NJ, Paganga G. Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. Free Radic Biol Med. 1996 [citado el 28 de mayo de 2025];20(7):933–56.
  68. Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int J Biochem Cell Biol. 2007 [citado el 28 de mayo de 2025];39(1):44–84.
  69. Frankel EN. Lipid oxidation. 2nd ed. Cambridge: Woodhead Publishing; 2012.

70. Jacob RA, Sotoudeh G. Vitamin C function and status in chronic disease. *Nutr Clin Care*. 2002 [citado el 28 de mayo de 2025];5(2):66–74.
71. Kensler TW, Wakabayashi N, Biswal S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1–Nrf2–ARE pathway. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2007 [citado el 28 de mayo de 2025];47:89–116.
72. Cantero AS. Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional [Tesis Doctoral]. España: Universitat de Lleida; 2009 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=83704>
73. Ruiz Benitez ML, editor. Determinación de la actividad antioxidante [Internet]. Barranquilla: Universidad Simón Bolívar; 2020 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://bonga.unisimon.edu.co/server/api/core/bitstreams/d71584bf-96ec-4289-9212-34c10b3a87b4/content>
74. Becton DAC. IDS-23-4851 Disco Sensi-Disc™ BD BBL™ [Internet]. 2023 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8808421\(0205\)\\_es.pdf](https://legacy.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/US/8808421(0205)_es.pdf)
75. Gregori Valdés BS. Estructura y actividad de los antifúngicos. *Rev Cubana Farm* [Internet]. 2005 [citado el 19 de diciembre de 2024];39(2). Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/far/v39n2/far12205.pdf>
76. Kalemba D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem* [Internet]. 2003 [citado el 19 de diciembre de 2024];10(10):813–29. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.2174/0929867033457719>
77. Ahmad A, Khan A, Akhtar F, Yousuf S, Xess I, Khan LA, et al. Fungicidal activity of thymol and carvacrol by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity against *Candida*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* [Internet]. 2011 [citado el 19 de diciembre de 2024];30(1):41–50. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1007/s10096-010-1050-8>
78. Pérez CC, Rivera PB, Roque M, Quiroz JR. Actividad antimicótica in vitro y elucidación estructural del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* “muña”. *Ciencia e investigación* [Internet]. 2006 [citado el 19 de diciembre de 2024];9(1):1–5. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/view/5075/4171>
79. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G. Fármacos utilizados en el tratamiento de las infecciones, el cáncer y los trastornos inmunológicos. En: Rang HP, Dale

- MM, Ritter JM, Flower RJ, Henderson G, editores. *Farmacología de Rang y Dale*. 7 ed. España: Elsevier; 2012. p.609-686.
80. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils—A review. *Food Chem Toxicol*. 2008 [citado el 28 de mayo de 2025];46(2):446–75.
81. Kalembe D, Kunicka A. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. *Curr Med Chem*. 2003 [citado el 28 de mayo de 2025];10(10):813–29.
82. Miguel MG. Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*. 2010 [citado el 28 de mayo de 2025];15(12):9252–87.
83. Bassolé IH, Juliani HR. Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules*. 2012 [citado el 28 de mayo de 2025];17(4):3989–4006.
84. Aubry JM, Schorsch YG, Rodriguez MP, Alvarez G. *Formulación Presentación general*. [Internet]. 1 ed. Venezuela: Ministerio de ciencia y tecnología, Universidad de los Andes; 2004 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/06/S011A\\_Formulacion.pdf](https://firp-ula.org/wp-content/uploads/2019/06/S011A_Formulacion.pdf)
85. Pinillos JF, Lopera CM. Elaboración de una formulación farmacéutica a través de un diseño experimental de mezclas. *VITAE* [Internet]. 2009 [citado el 19 de diciembre de 2024];16(3): 338-353. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a08.pdf>
86. Recio del Bosque FH, Zugazagoitia J, Zugazagoitia Herranz R, editores. *Química Inorgánica*. [Internet]. 5 ed. México: McGraw Hill; 2012 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: [https://librosdeconsultaparabachillerato.wordpress.com/wp-content/uploads/2018/08/quimica\\_inorganica\\_recio\\_5ed.pdf](https://librosdeconsultaparabachillerato.wordpress.com/wp-content/uploads/2018/08/quimica_inorganica_recio_5ed.pdf)
87. Albert, R. K. (2020). *El Manual Merck de diagnóstico y tratamiento* (Merck, Ed.). Editorial Médica Panamericana. <https://www.medicapanamericana.com/international/libros/el-manual-merck-20a-edicion?srsId=AfmBOorew7zeRtAOLccvylAig8Mbz6niPURCm8x6lqGKB-Aph4hPywgW>
88. Merck. *Cromatografía de gases (GC)* [Internet]. 2024 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://www.sigmaaldrich.com/PE/es/applications/analytical-chemistry/gas-chromatography>
89. Teran Hilares R. *Diseño de mezclas de compuestos fenólicos en función a su eficiencia antioxidante en el aceite de sacha inchi (Plukenetia volubilis)* [Tesis de Maestría]. Lima: Universidad Nacional Agraria La Molina; 2014 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <http://45.231.83.156/handle/20.500.12996/2419>

90. González Urbaneja I. Radicales libres: Algunas consideraciones clínicas. *Gac Med Caracas* [Internet]. 2006 [citado el 19 de diciembre de 2024];114(2):91–8. Disponible en: [https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0367-47622006000200001](https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0367-47622006000200001)
91. Vidal Salgado L, Vargas Hernández C. Medición de la absorbancia óptica de soluciones acuosas mediante la instrumentación virtual y el control. *Sci Tech* [Internet]. 2014 [citado el 19 de diciembre de 2024];19(1):49–53. Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=84930900008>
92. Espinoza Mormontoy AL. Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro del extracto seco hidroalcohólico al 70% de *Caiophora cirsiifolia* C. Presl “Ccori kisa” sobre cepas ATCC y cepas aisladas de *Staphylococcus aureus* [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2018 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3559>
93. Luque Lipa M, Marquez Vega R. Actividad antioxidante y efecto antibacteriano del aceite esencial de cascara de *Citrus sinensis* variedad Valencia Late [Tesis de Pregrado]. Lima: Universidad Norbert Wiener; 2021 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/20.500.13053/5092>
94. Camacho Caycho FI, Chamorro Contreras RE. Diseño y formulación de una línea dermocosmética a base del aceite de Sacha Inchi “*Plukenetia volubilis* Linneo” para su aplicación antioxidante para el cuidado del cabello y la piel [Tesis de Pregrado]. Lima: Universidad Norbert Wiener; 2018 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uwiener.edu.pe/entities/publication/87c6bd0d-4203-48e9-a5ed-68791ca5e012>
95. Fernandez Fernandez LA. Principios activos del aceite esencial de *Luma chequen* (Molina) A. Gray “Arrayán” y evaluación de su actividad antibacteriana [Tesis Doctoral]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2019 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsa.edu.pe/server/api/core/bitstreams/57c2b123-3b05-4ff1-8cb4-52ae30841a1c/content>
96. Merma Ccana C. Evaluación de la actividad antimicótica del aceite esencial de *Clinopodium brevicalyx* (Cjuñuca), formulación de una emulsión tópica y evaluación in vitro de su actividad antimicótica sobre cepas ATCC de *Trichophyton rubrum* [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2017 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3309>
97. Cabrera Suárez HR, Morón Rodríguez FJ, Victoria Amador MC, García Hernández AI, Acosta de la Luz L. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania*

- matricarioides. Revista cubana de plantas medicinales [Internet]. 2012 [citado el 19 de diciembre de 2024];17(3):268-278. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n3/pla07312.pdf>
98. Huanqui Franco AS. Determinación de la actividad antioxidante y antibacteriana del aceite esencial de *Clinopodium Bolivianum* (Benth.) Kuntze “Cjuñuca” frente a la cepa de *Cutibacterium acnes* ATCC 6919 [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2019 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/4628>
99. Farrell KT. Spices, condiments and seasonings [Internet]. Springer Science & Business Media, editor. Gaithersburg: Springer Science & Business Media; 1998 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://books.google.at/books?id=ehAFUhWV4QMC>
100. Pawliszyn J. Handbook of Solid Phase Microextraction. Kidlington: Elsevier; 2012.
101. Bilia AR, Guccione C, Isacchi B, Righeschi C, Firenzuoli F, Bergonzi MC. Essential oils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Evid Based Complement Alternat Med*. 2014 [citado el 28 de mayo de 2025];2014:651593.
102. Zunino SJ, Storms DH. Quantification of polyphenolic compounds and their antioxidant capacity in methanol extracts of *Luma chequen* and *Satureja* spp.. *J Nat Prod*. 2012;75(11):1985–90.
103. Sancho Huanca CL. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos acuoso y etanólico de bayas de Saúco (*Sambucus peruviana* H.B.K.) antes y después de la incorporación a gomitas masticables y determinación del efecto sobre los niveles de malondialdehído en membranas de hepatocitos de las gomitas con mejores características organolépticas. [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2021 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/5832>
104. Durán Cascamayta R. Actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* “Musgo Blanco” [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2018 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3823>
105. Florez Huanca G, Flores Perez E. Actividad antioxidante y antibacteriana in vitro de los extractos metanólicos liofilizados de *pleurotus djamor* frente a *staphylococcus aureus* ATCC 29213 y *escherichia coli* ATCC 25922, de las setas cultivadas en el centro poblado de Kiteni - Echarate, La Convención [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San

Antonio Abad del Cusco; 2024 [citado el 11 de abril de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/997z>

106. Obispo Huamani RC. Actividad antioxidante del aceite esencial de *Clinopodium bolivianum* (Benth.) Kunth. "koa" y su utilización en tres formulaciones de productos cosméticos capilares. [Tesis de Pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2024 [citado el 28 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/backend/api/core/bitstreams/6b749813-a4e2-441b-b5c9-c7481a5e9484/content>
107. Jáuregui Zela S. Evaluación de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico in vitro de la raíz tuberosa de Sacha Paraccay (*Colignonia parviflora* var. *biumbellata* Rafinesque) frente a *Malassezia furfur* cepa ATCC 14521 y formulación de champú anticasca [Tesis de Pregrado]. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2018 [citado el 19 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/3904>

## ANEXOS

### ANEXO N°1. FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL DE KHUÑU MUÑA



HERBOLARIOS ANDINOS Y AMAZÓNICOS S.A.C.

RUC. 20607391123

#### FICHA TÉCNICA ACEITE ESENCIAL DE KHUÑU MUÑA

##### DATOS GENERALES DEL PRODUCTO

NOMBRE DEL PRODUCTO: "ACEITE ESENCIAL DE KHUÑU MUÑA 100% PURO"  
 USOS: Materia prima destinada al uso y la fabricación de aromas y/o fragancias.  
 MÉTODO DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO: Destilación por arrastre de vapor.  
 INSUMO/PARTE VEGETAL: Se utiliza la poda de las partes aéreas: hojas, tallos y flores de *Satureja boliviana*.

##### ORIGEN BOTÁNICO Y TAXONÓMICO DEL PRODUCTO

NOMBRE CIENTÍFICO	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	ORIGEN DEL MATERIAL
<i>Satureja boliviana</i> .	Orden: Lámbiales <del>Bromhead</del>	Cosecha de parcelas agroforestales de la CC.
<b>NOMBRE COMUNES</b>	Familia: <del>Lamiaceae Martinov</del>	Amparaes, Distrito de
Arash-muña, Wayra muña, Koa muña, Huaycha, Khuñuka, Ismuña, Martin Muña (Bolivia), Muña-muña, Orcco-muña, Orégano de los Incas.	Género: <i>Satureja</i> Especie: <i>Satureja boliviana</i> (Benth) Brig.	Lares, Provincia de Calca, Región Cusco, País Perú. Altitud 3100 a 3500 msnm.

##### CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y COMPOSICIÓN QUÍMICA

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	COMPOSICIÓN QUÍMICA							
	Pico	IR calc	Constituintes	%	Pico	IR calc	Constituintes	%
<ul style="list-style-type: none"> <li>Aspecto general aparente: Líquido cristalino.</li> <li>Color: Amarillo-verdoso.</li> <li>Olor: Característico agradable.</li> <li>Sabor: Característico y mentolado.</li> </ul>	1	989	α-pineno	0.	10	1144	mentona	14.
	2	1009	sabineno	0.	11	1154	isomentona	7.
	3	1010	β-pineno	0.	12	1166	isopulegona	7.
	4	1039	p-cimeno	1.	13	1229	pulegona	38.
	5	1042	limoneno	1.	14	1243	piperitona	2.
	6	1044	1,8-cineol	3.	15	1332	crisantenona	2.
	7	1064	γ-terpineno	1.	16	1407	β-cariofileno	2.
	8	1101	linalool	3.	17	1487	α-bulneseno	3.
	9	1114	acetato 1octen3yla	3.			otros	6.

Método de análisis:  
 Cromatografía Gasosa de Alta Resolución. Cromatógrafo a Gas AGILENT 7820A.  
 Coluna: HP-5 30m x 0,32mm x 0,25 μm (AGILENT). Temp.: Coluna: 50°C (0min), 3°C/min a 200°C. Injetor : 220°C Split: 1/50. Detector FID: 220°C. Vol. de inyección: 1 μl (conc 1.0 % en clorofórmio). Identificação confirmada por cromatografía gasosa acoplada a espectrometría de massas (CG-EM).

Dra. Vany Ferraz  
 Laboratorio de Cromatografía  
 Departamento de Química  
 vanyferraz@ufmg.br  
 Belo Horizonte, 23/12/20

##### ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Guardar en recipientes bien llenos y cerrados, en un lugar fresco y seco y, al abrigo de la luz. Luego de los 24 meses de almacenaje, se deberá controlar la calidad antes de usar.

##### DESCRIPCIÓN ADICIONAL DE LA PLANTA Y USOS TRADICIONALES

Planta ~~subarborescente~~ y perenne, cuya altura promedio fluctúa entre 60-80 cm de longitud. Hojas pequeñas muy aromáticas. Florea abundantemente después de la estación lluviosa. Su hábitat, preferentemente en la zona de estudio es en el talud de las carreteras y laderas adyacentes.

La medicina tradicional indica que sirve contra dolores de estómago, cólicos, para contrarrestar los dolores de cabeza y mareos, para provocar la expulsión de las lombrices intestinales y es usado como un condimento para las comidas.

##### FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se han realizado investigaciones determinando la actividad antimicrobiana y antimicótica de *Satureja boliviana* (Flores Q., Esther; Velasco A., Patricia; Figueroa A., Nelson; Giménez T, Alberto.)

Se ha realizado también investigaciones sobre *Satureja boliviana*, que validan científicamente sus propiedades farmacológicas: antisépticas, antiespasmódicas, analgésicas, ~~antiescabióticas~~, etc.

  
 Mario Jesús Urrunaga Ormachea  
 Químico Farmacéutico  
 CQFP 10068

Ficha técnica del aceite esencial de arrayán, donde nos precisa datos importantes del proceso y condiciones de recolección, así como datos importantes del aceite y sus usos medicinales.

## ANEXO N°2. FICHA TÉCNICA DEL ACEITE ESENCIAL DE ARRAYÁN



HERBOLARIOS ANDINOS Y AMAZÓNICOS S.A.C.

RUC. 20607391123

### FICHA TÉCNICA ACEITE ESENCIAL DE ARRAYÁN

#### DATOS GENERALES DEL PRODUCTO

NOMBRE DEL PRODUCTO: "ACEITE ESENCIAL DE ARRAYÁN 100% PURO"  
 USOS: Materia prima destinada al uso y la fabricación de aromas y/o fragancias.  
 MÉTODO DE OBTENCIÓN DEL PRODUCTO: Destilación por arrastre de vapor.  
 INSUMO/PARTE VEGETAL: Se utiliza la poda de las partes aéreas: hojas, tallos y flores de *Luma chequen*.

#### ORIGEN BOTÁNICO Y TAXONÓMICO DEL PRODUCTO

NOMBRE CIENTÍFICO	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA	ORIGEN DEL MATERIAL
<i>Luma chequen</i>	Orden: <del>Myrtales</del>	Cosecha de parcelas
<b>NOMBRE COMUNES</b>	Familia: <del>Myrtaceae</del>	agroforestales de la CC.
Arrayán, Mirta de los	Género: <i>Luma</i> .	<del>Amparaes</del> , Distrito de Lares,
andes, <del>Wallpuma, Rayán</del>	Especie: <i>Luma chequen</i>	Provincia de Calca, Región
y Luma.		Cusco, País Perú. Altitud 2500 a
		3400 msnm.

#### CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS Y COMPOSICIÓN QUÍMICA

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS	COMPOSICIÓN QUÍMICA							
	Pico	IR calc	Constituintes		Pico	IR calc	Constituintes	
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspecto general aparente: Líquido cristalino.</li> <li>• Color: Amarillo-verdoso.</li> <li>• Olor: Característico, tónico agradable.</li> <li>• Sabor: Característico agradable.</li> </ul>	1	983	$\alpha$ -thujeno	1.	8	1101	linalool	3
	2	990	$\alpha$ -pineno	57.	9	1183	$\alpha$ -terpineol	1
	3	1010	$\beta$ -pineno	5.	10	1407	$\beta$ -cariofileno	1
	4	1037	isobutirato metil butila	1.	11	1475	germacreno d	2
	5	1042	limoneno	2.	12	1485	$\beta$ -selineno	2
	6	1044	1.8-cineol	9.			otros	9
	7	1064	óxido de linalool	0.				

Método de análisis:  
 Cromatografía Gaseosa de Alta Resolución. Cromatógrafo a Gas AGILENT 7820A.  
 Columna: HP-5 30m x 0.32mm x 0.25  $\mu$ m (AGILENT). Temp.: Columna: 50°C (0min), 3°C/min a 200°C. Injetor :  
 220°C Split: 1/50. Detector FID: 220°C. Vol. de inyección: 1  $\mu$ l (conc. 1.0 % en clorofórmio). Identificação  
 confirmada por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas (CG-EM).

Dra. Vany Ferraz  
 Laboratorio de Cromatografía  
 Departamento de Química  
 vanyferraz@ufmg.br  
 Belo Horizonte, 23/12/2017

#### ESTABILIDAD Y ALMACENAJE

Guardar en recipientes bien llenos y cerrados, en un lugar fresco y seco y, al abrigo de la luz. Luego de los 24 meses de almacenaje, se deberá controlar la calidad antes de usar.

#### DESCRIPCIÓN ADICIONAL DE LA PLANTA Y USOS TRADICIONALES

Planta arbustiva doméstica perenne que crece entre 5 a 6m de altura y una cobertura aproximada de 5m de diámetro. Tallo erguido, leñoso, ramificado desde la base. Hojas opuestas, flores solitarias, axiales, hermafroditas, blancas, actinomorfas y tetrámeras. Crece desde los 2500 a 3400 m.s.n.m., en los Andes de Sudamérica Central, entre Perú, Bolivia y Chile. En el Perú, se distribuye entre los departamentos de Ancash, pasco, Lima, Junín, Ayacucho, Arequipa y Cusco, con predilección hacia el sur. Su población se ve favorecida en lugares de alta humedad, a orillas de los ríos.

La medicina tradicional señala a *Luma chequen* como una planta con propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas y conservante de tejidos ~~postmortem~~.

#### FARMACOLOGÍA EXPERIMENTAL

Se realizó el estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de *Luma chequen*, demostrando una actividad antioxidante (Mario ~~Carhuapoma~~ Y., Pablo Bonilla R., Silvia Suárez C., Roser Villa, Sofia López G.).

Se determinó la actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Luma chequen*, frente a la Cepa de ~~Streptococcus mutans~~ ATCC 25175 (Moína Gallegos, Víctor).

  
 Mario Jesús Ortunaga Ormachea  
 Químico Farmacéutico  
 CQFP 10068

Ficha técnica del aceite esencial de arrayán, donde nos precisa datos importantes del proceso y condiciones de recolección, así como datos importantes del aceite y sus usos medicinales.

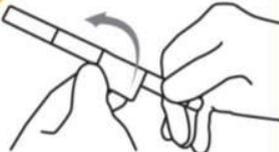
## ANEXO N°3. ACTIVACIÓN DE CEPAS ATCC

**KWIKSTIK™**

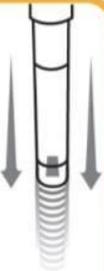
**KWIKSTIK™**  
plus

### INSTRUCCIONES CON ILUSTRACIONES

- 

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

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

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

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

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

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

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

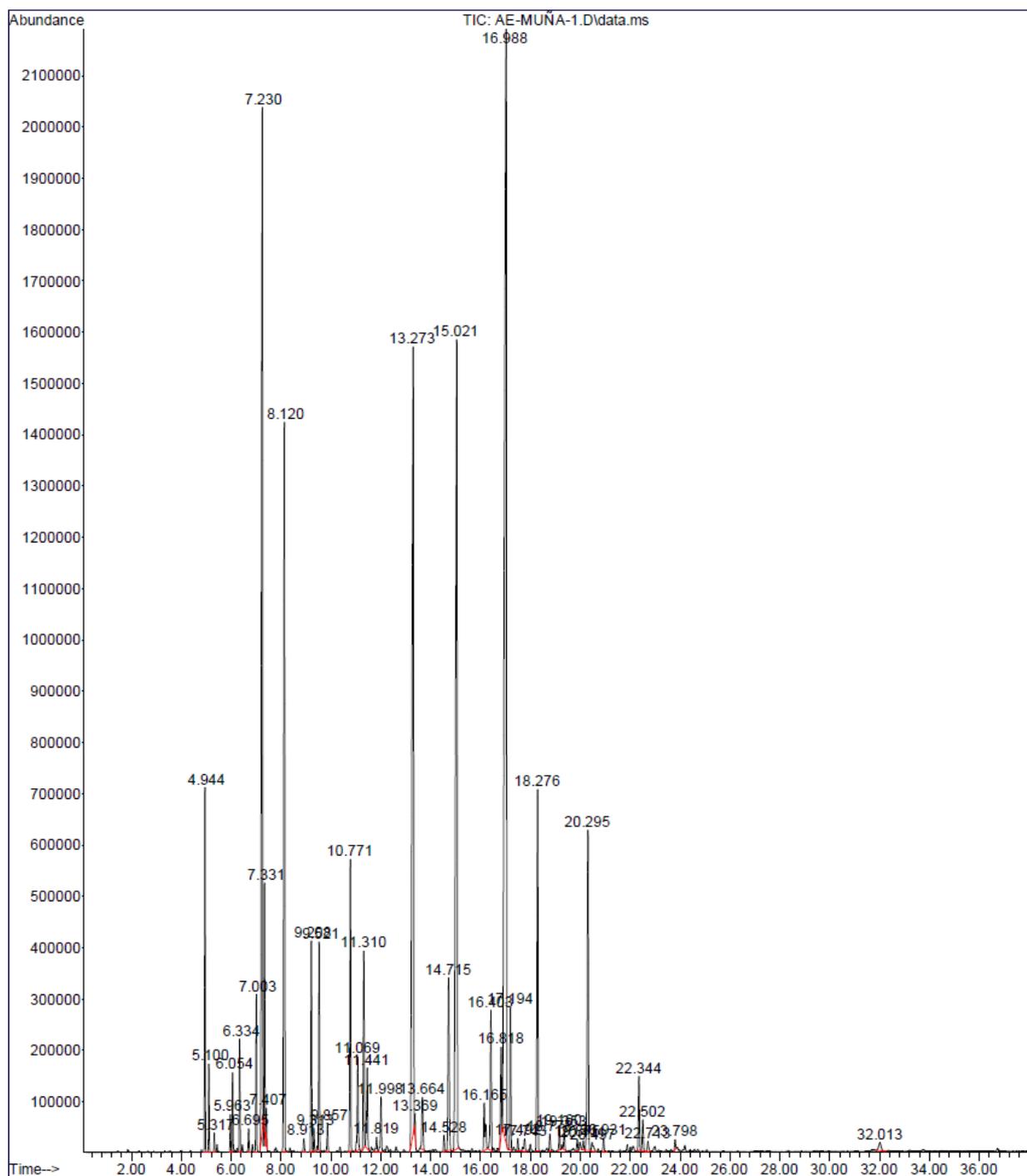
Por medio de un asa esterilizada, haga estrías para facilitar el aislamiento de la colonia.
- 

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

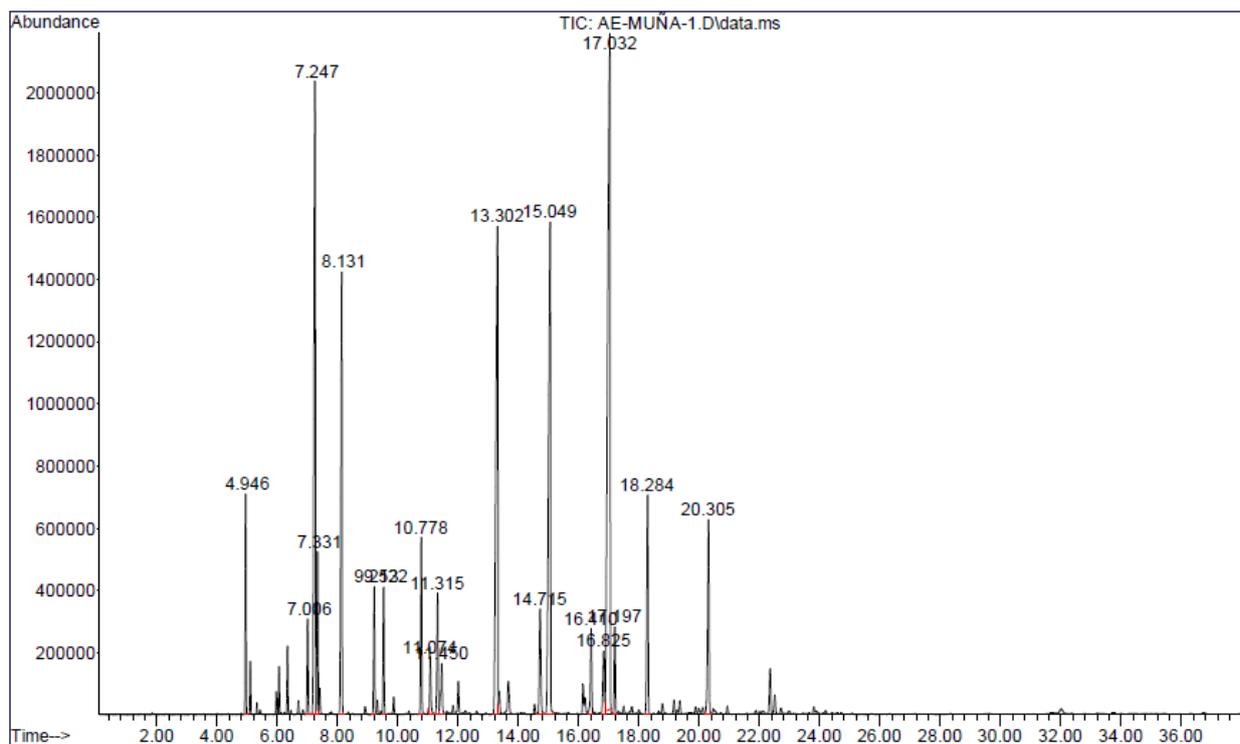
**De inmediato**, incube la(s) placa(s) invertida(s) de cultivo principal inoculada(s) a temperatura y en condiciones apropiadas para el microorganismo.  
*Para ver el método de cultivo ingrese a la página del producto en [www.microbiologics.com](http://www.microbiologics.com).*

Procedimiento estandarizado brindado por el proveedor para la correcta activación y uso de una cepa del modelo KWIKSTICK

## ANEXO N°4 CROMATOGRAMA DE KHUÑU MUÑA

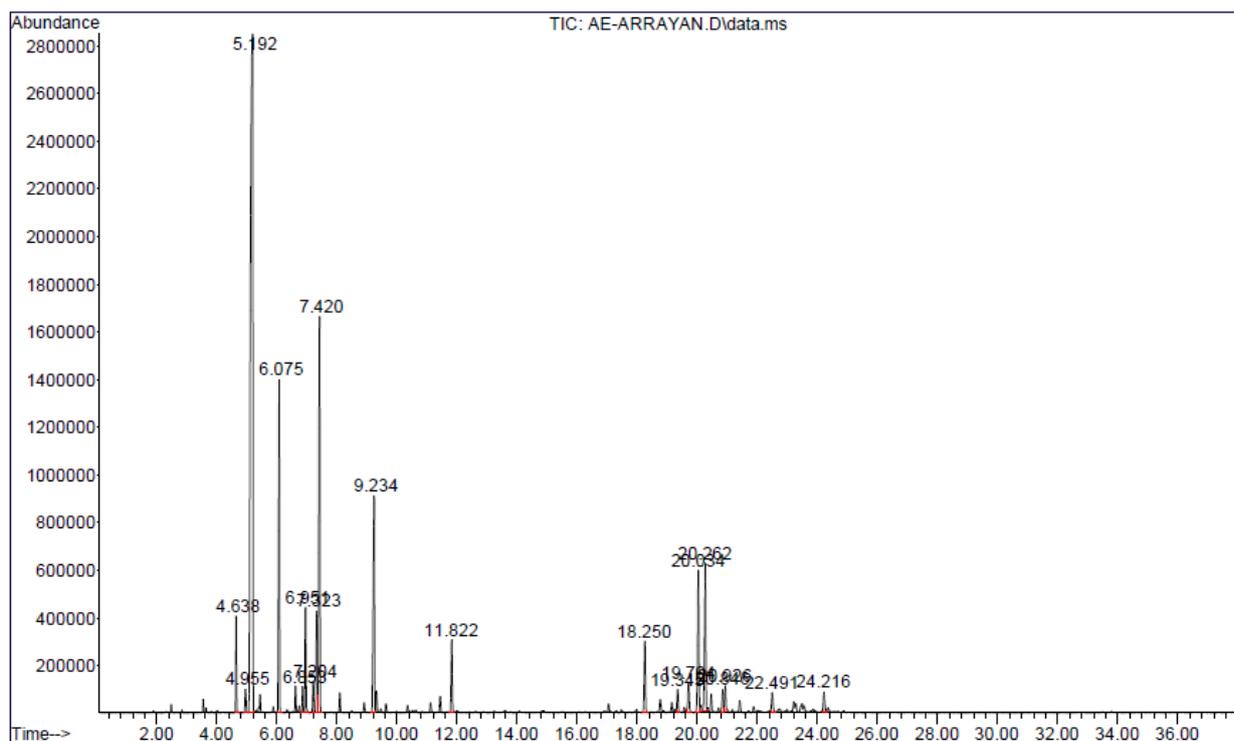


Resultados de todos los compuestos encontrados mediante cromatografía de gases en la muestra analizada de aceite esencial de Khuñu muña

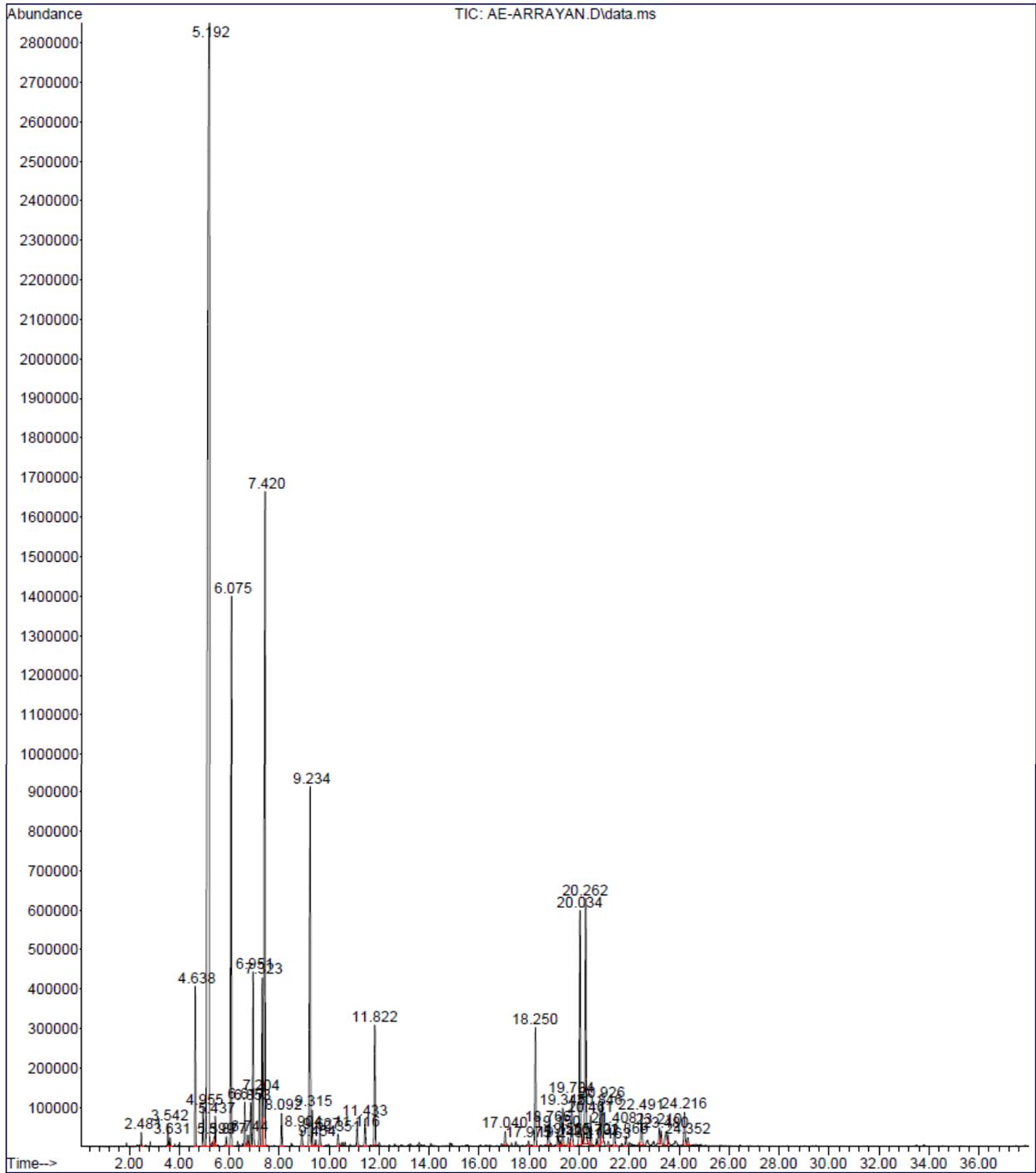


Resultados de todos los compuestos encontrados mediante cromatografía de gases en la muestra analizada de aceite esencial de Khuñu muña

## ANEXO N°5 CROMATOGRAMA DE ARRAYÁN



Resultados de todos los compuestos encontrados mediante cromatografía de gases en la muestra analizada de aceite esencial de Arrayán



Resultados de todos los compuestos encontrados mediante cromatografía de gases en la muestra analizada de aceite esencial de Arrayán

## ANEXO N°6 DETERMINACIÓN DE LA PRUEBA SOLUBILIDAD



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

### RESULTADOS

Cusco, 05 de Mayo del 2025 <sup>SB-05</sup>

Solicitante : Carlos Chura Sequeiros y Heidy Angelica Quispe Davila  
Tipo de Análisis : Solubilidad  
Método : Solubilidad en diferentes solventes  
Tipo de Muestras : Aceite esencial de Arrayan *Luma Chequen* (Arrayan)  
*Satureja boliviana* (Khuñu Muña)  
Cantidad de Muestra : 2 Frasco con 5ml aproximadamente de cada uno  
Almacenamiento : 4 °C.

Aceite Esencial	Agua	Metanol 80%	Metanol Abs	Etanol 70	Etanol 96	Acetona	Éter	Cloroformo
<i>Luma Chequen</i> Arrayan	-	-	+++	+	+++	+++	+++	+++
<i>Satureja boliviana</i> Khuñu Muña	-	-	+++	++	+++	+++	+++	+++

Muy Soluble = +++, Parcialmente Soluble = ++, Poco Soluble = +, Insoluble = -

#### Referencia

- Lock de Ugaz O. 1994. "Investigación Fitoquímica Métodos en el estudio en los productos naturales" Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima.



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

## ANEXO N°7 FICHA DE RESULTADOS DEL LABORATORIO DE CROMATOGRFIA Y ESPECTROFOTOMETRÍA DEL ACEITE ESENCIAL DE KHUÑU MUÑA



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

### RESULTADOS

Aceite esencial de Khuñu Muña

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Area	Contenido Relativo %
1	4.94	beta-Thujene	028634-89-1	94	1232583	2.2
2	5.10	(+)-alpha-pinene	007785-70-8	96	302817	0.5
3	5.32	2,4-thujadiene	036262-09-6	91	68481	0.1
4	5.97	beta-Thujene	028634-89-1	91	138867	0.2
5	6.05	.beta.-Pinene	000127-91-3	97	299198	0.5
6	6.33	.beta.-Myroene	000123-35-3	94	424757	0.8
7	6.70	.alpha.-Pheilandrene	000099-83-2	94	97714	0.2
8	7.00	(+)-4-Carene	029050-33-7	98	681288	1.2
9	7.23	p-Cymene	000099-87-6	97	6433602	11.5
10	7.33	D-Limonene	005989-27-5	98	870443	1.6
11	7.41	Eucalyptol	000470-82-6	99	88220	0.2
12	8.12	.gamma.-Terpinene	000099-85-4	94	3847437	6.9
13	8.91	(+)-4-Carene	029050-33-7	97	70030	0.1
14	9.21	Linalol	000078-70-6	96	957874	1.7
15	9.31	Pentanoic acid, 2-methylbutyl ester	055590-83-5	72	95997	0.2
16	9.52	1-Octen-3-yl-acetate	002442-10-6	91	890248	1.6
18	10.77	l-Menthone	014073-97-3	98	1430388	2.6
19	11.07	(±)-Isomenthone	000491-07-6	98	519896	0.9
20	11.31	Levomenthol	002216-51-5	91	1014265	1.8
21	11.44	Terpinen-4-ol	000562-74-3	97	513784	0.9
22	11.82	.alpha.-Terpineol	000098-55-5	96	88076	0.2
23	12.00	trans-dihydrocarvone	005948-04-9	98	294910	0.5
24	13.27	Pulegone	015932-80-6	98	6822851	12.2
25	13.37	(-)-Carvone	006485-40-1	97	53108	0.1
26	13.67	pipertone	000089-81-6	95	363276	0.6
27	14.53	Bomyl acetate	000076-49-3	98	80445	0.1
28	14.71	Thymol	000089-83-8	95	1138402	2.0
29	15.02	3-Methyl-4-Isopropylphenol	003228-02-2	94	6925202	12.4
30	16.17	Eucarvone	000503-93-5	87	385281	0.7
31	16.40	Thymol acetate	000528-79-0	97	790011	1.4
33	16.99	Carvacryl acetate	006380-28-5	96	12088105	21.6
34	17.19	Geranyl formate	000105-86-2	90	698234	1.2
35	17.49	beta-elemene	000515-13-9	92	66104	0.1
37	18.28	Caryophyllene	000087-44-5	99	2042171	3.6
38	18.78	Aromadendrene	000489-39-4	99	95502	0.2
39	19.16	Humulene	006753-98-6	97	115382	0.2
40	19.35	Alloaromadendrene	025246-27-9	99	111959	0.2



Quipico, Jorge Chuquensira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNISAAC,  
CQP - 814

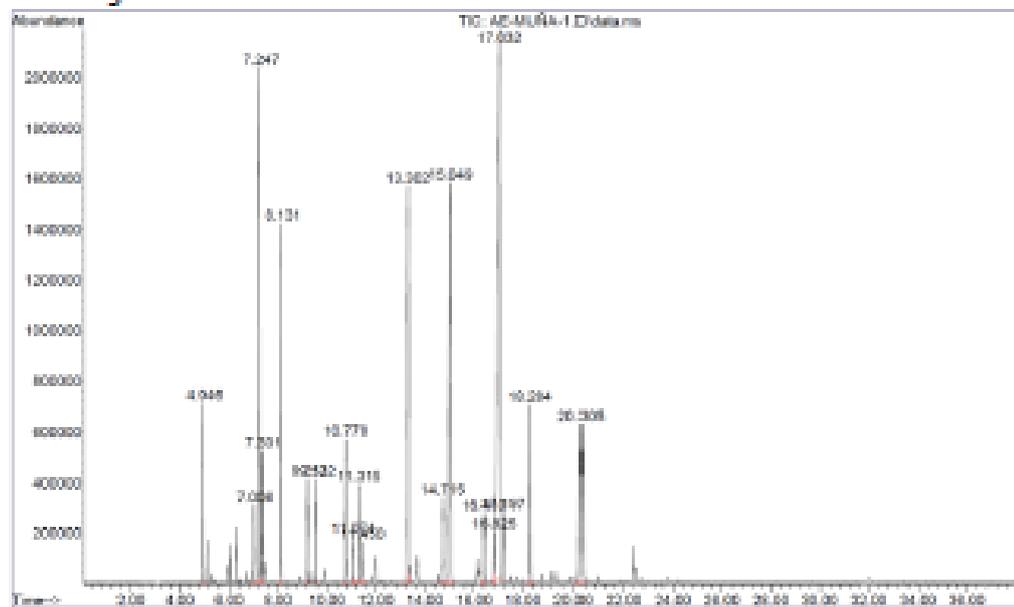


## RESULTADOS

continua

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Area	Contenido Relativo %
41	19.87	Germaacrene D	023986-74-5	97	59504	0.1
42	20.11	alpha-Bergamotene	017699-05-7	89	53492	0.1
43	20.30	Germaacrene B	015423-57-1	87	2009816	3.6
44	20.50	Eremophilene	010219-75-7	89	85828	0.2
45	20.93	delta-Cadinene	000483-76-1	99	76292	0.1
46	22.34	Spathulenol	005750-60-3	95	422724	0.8
47	22.50	Globulol	051371-47-2	93	189474	0.3
48	22.72	gamma-Gurjunene	022567-17-5	95	69298	0.1

Cromatograma Aceite esencial de Khufu Mufa



*[Handwritten signature]*

Quirico Jorge Chiquensira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNGAAC,  
CQP - 814

# ANEXO N°8 FICHA DE RESULTADOS DEL LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROFOTOMETRÍA DEL ACEITE ESENCIAL DE ARRAYÁN



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

## RESULTADOS

Cusco, 10 Julio del 2023 <sup>030</sup>

Solicitantes : Carlos Chura Sequeros y Hedy Angelica Quispe Davila  
 Tipo de Análisis: Perfil de Compuestos orgánicos volátiles en aceite esencial  
 Método: Cromatografía de Gases GC-MSD.  
 Tipo de Muestra: 2 frascos contenido líquido denominado aceite esencial de Arrayan y  
 Khufu Muña  
 Almacenamiento: 4 °C.

### Aceite Esencial Arrayan

Pico	TR	Compuestos orgánicos volátiles (VOC) Librería Nist 11	CAS	Qual	Area	Contenido Relativo %
1	2.48	Ethyl isobutyrate	000097-62-1	91	39341	0.10
2	3.54	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	007452-79-1	94	76792	0.20
3	3.63	Propanoic acid, 2-methyl-, propyl ester	000544-49-5	90	35402	0.09
4	4.64	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	000097-85-8	86	696540	1.78
5	4.95	beta-thujene	028634-89-1	94	252935	0.65
6	5.19	(+)-alpha-pinene	007785-70-8	96	15526933	39.73
7	5.40	alpha-Fenchene	000471-84-1	97	38166	0.10
8	5.44	(-)-camphene	005794-04-7	97	133218	0.34
9	5.88	2-Pentanol propanoate	054004-43-2	83	47953	0.12
10	6.08	(1S)-beta-Pinene	018172-67-3	97	3133675	8.02
11	6.62	Butanoic acid, 2-methyl-, 2-methylpropyl ester	002445-67-2	90	210194	0.54
12	6.74	2-Pentenoic acid, 4-methyl-, ethyl ester, (E)-	015790-86-0	93	59488	0.15
13	6.85	Hexane, 2,3-dimethyl-	000584-94-1	72	219189	0.56
14	6.95	Propanoic acid, 2-methyl-, 2-methylbutyl ester	002445-69-4	90	918088	2.35
15	7.20	p-Cymene	000099-87-6	97	295566	0.76
16	7.32	D-Limonene	005989-27-5	98	1124670	2.88
17	7.42	Eucalyptol	000470-82-6	99	4340173	11.11
18	8.09	gamma-Terpinene	000099-85-4	97	180688	0.46
19	8.90	(+)-4-Carene	029050-33-7	98	107293	0.27
20	9.23	Linalol	000078-70-6	96	2616052	6.69
21	9.31	Isoamyl 2-methyl butyrate	027625-35-0	80	196352	0.50
22	9.63	Fenchyl alcohol	001632-73-1	98	87269	0.22
23	10.35	Isopinocarveol	006712-79-4	78	78863	0.20
24	11.12	endo-Borneol	000507-70-0	97	112068	0.29
25	11.43	Terpinen-4-ol	000562-74-3	97	177184	0.45
26	11.82	alpha-Terpineol	000098-55-5	87	763507	1.95
27	17.04	alpha-Copaene	1000360-33-0	99	92122	0.24
28	17.97	alpha-gurjunene	000489-40-7	99	33380	0.09

Qual = Porcentaje de coincidencia con la base de datos Nist 11, se reporta mas del 70%

CAS = Numero para identificar la molécula

TR = Tiempo de Retención, tiempo al cual son detectados (ver cromatograma)



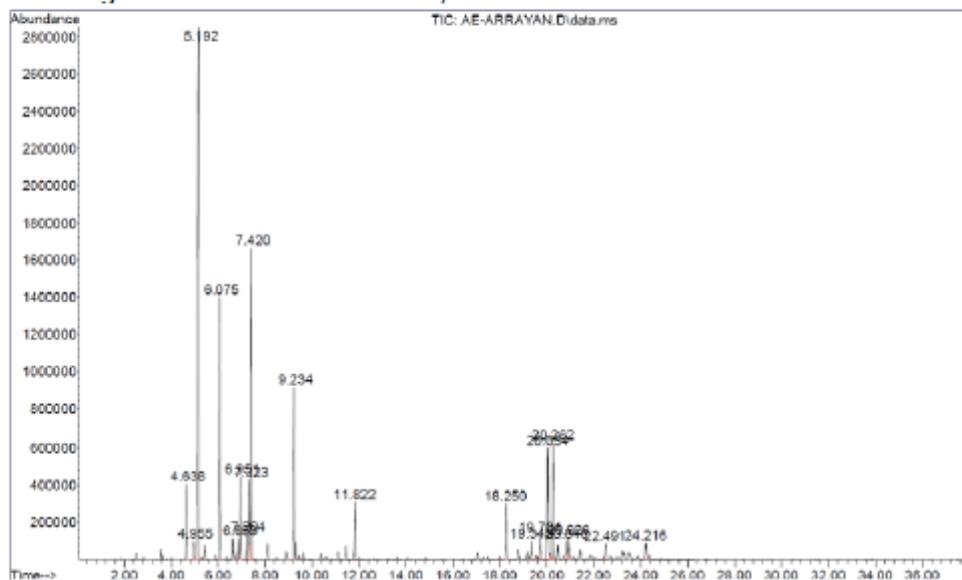
*[Handwritten Signature]*

Quilico, Jorge Chiquenaira Pari  
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
 Espectrometría - LNSAAC.  
 CCP - 914



## RESULTADOS

Cromatograma aceite esencial de Arrayan



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

Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría – UNSAAC.  
CQP - 914



## RESULTADOS

### Condiciones de Análisis para Aceite esencial

Cromatógrafo:	Agilent 6890N
Software de Control:	Chemstation B.030
Detector de Masas:	Agilent 5975B
Energía de Ionización:	70eV
Modo de Ionización:	Impacto Electrónico (IE)
Modo de escaneo de masas:	40 a 400 uma
Retraso del disolvente:	5.0 minutos
inyector Automático:	Agilent 7683B

Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano 30m x 0.25id x 0.5um film

Temperatura del Horno Inicial 60 °C por 1 min, Incremento de 4 °C/minuto hasta 230 °C, 3 min  
230 °C

Puerto de Inyección

Modo	: Split (con división)
Relación de Split	: 90:1
Temp. Inicial	: 200 °C
Tipo de Gas	: Helio
Flujo	: 1 mL/min
Tiempo de Análisis	: 46.50 min
Volumen de Inyección	: 1.0 uL
Muestra Inyecta	: Extraída con hexano

### Referencia

- Pino Alea, J. A. I Curso Internacional Análisis de Aceites Esenciales Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco 2014.
- Lynam, K. 2014 Potential Allergens in Aromatherapy Oils by GC/MS Using an Agilent J&W DB-XLB Capillary Column Agilent Technologies, Inc. 2850 Centerville Road Wilmington, DE 19808 USA 5990-5293EN



Químico Jorge Cheguenaira Pari  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC  
CQP - 814

## ANEXO N°9 REGISTRO FOTOGRAFICO

FOTOGRAFÍA N°1. Aceites esenciales de *Satureja boliviana* (Khuñu muña) y *Luma chequen* (Arrayán) obtenidos de la empresa Eco nature S.A.C. Perú.



DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS BLENDS DE *Satureja boliviana* (Khuñu muña) y *Luma chequen* (Arrayán)

FOTOGRAFÍA N°2. Preparación de reactivo DPPH

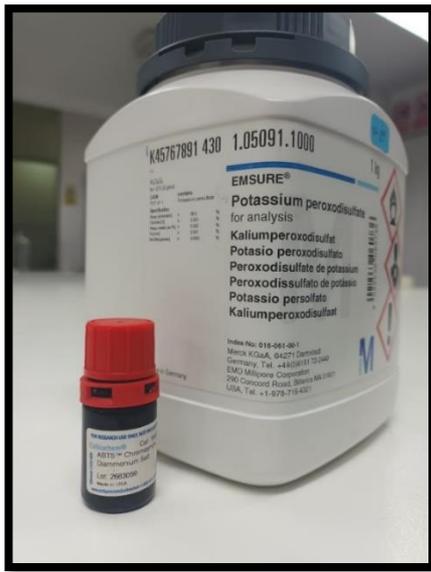


Reactivo DPPH



Materiales para preparar el reactivo

### FOTOGRAFÍA N°3. Reactivo ABTS para determinar la capacidad antioxidante

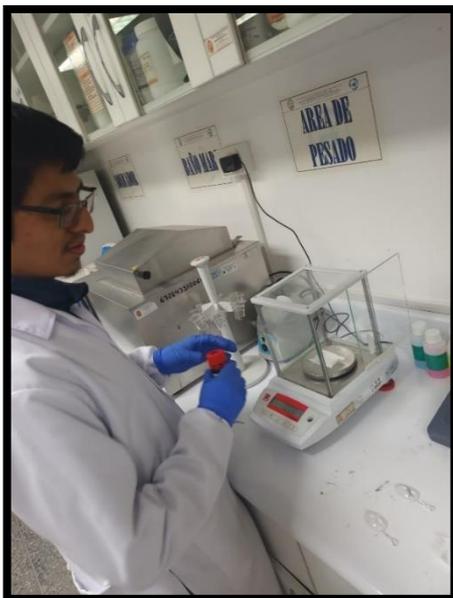


**Reactivo ABTS**



**Reactivo ABTS preparado**

### FOTOGRAFÍA N°4. Pesado de los reactivos y Trolox



**Pesado de reactivo DPPH**



**Pesado de reactivo ABTS**

**FOTOGRAFÍA N°5. Preparación de los reactivos y Trolox**

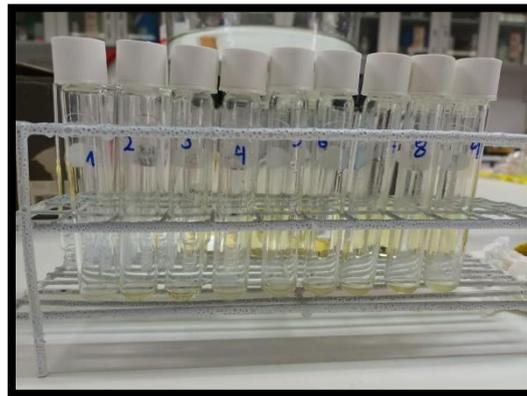


**Preparación de reactivo DPPH y ABTS para para las pruebas**



**Preparación de reactivo Trolox para curva patrón**

**FOTOGRAFÍA N°6. Tubos rotulados con diferentes concentraciones de Blends de los aceites de *Satureja boliviana* (Khuñu muña) y *Luma chequen* (Arrayán)**



**FOTOGRAFÍA N°7. Tubos con diferentes concentraciones de Blends de los aceites de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) y Trolox, tratados con el reactivo DPPH**

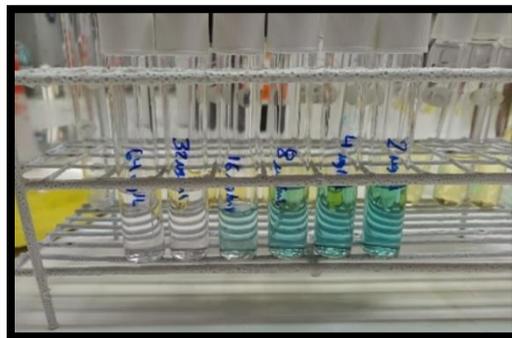


**Preparación de tubos rotulados**

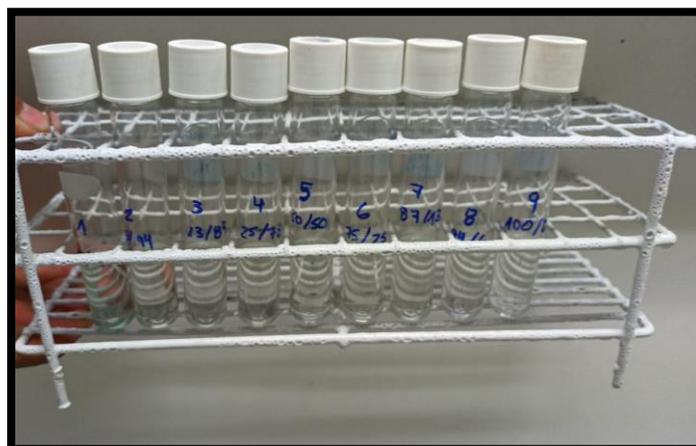


**Tubos tratados con el reactivo DPPH y tubos con curva patrón de trolox tratado con DPPH**

**FOTOGRAFÍA N°8. Tubos con diferentes concentraciones de Blends de los aceites de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) y Trolox, tratados con el reactivo ABTS**



**Tubos con curva patrón de Trolox tratado con ABTS**



**Tubos tratados con el reactivo ABTS**

**FOTOGRAFÍA N°9. Medición de absorbancia de los tubos con las concentraciones de los de Blends de los aceites de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) y Trolox, tratados con los reactivos DPH y ABTS**



**Calibración de espectrofotómetro UV-visible para medir la absorbancia a 517nm para DPPH y 734nm para ABTS**



**Medición de absorbancia**

**DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS BLENDS DE *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán).**

**Reactivación de la cepa *Malassezia furfur* ATCC 14521**

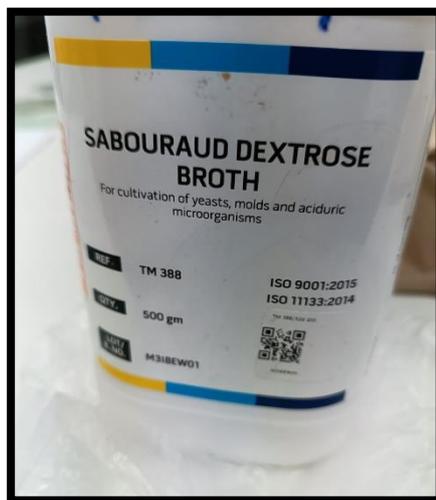
**FOTOGRAFÍA N°10. Esterilización de material en autoclave a 121° C**



FOTOGRAFÍA N°11. Cepa *Malassezia furfur* ATCC 14521 mantenida en refrigeración



FOTOGRAFÍA N°12. Caldo para crecimiento de *Malassezia furfur* ATCC 14521



Caldo Sabouraud Dextrosa para crecimiento de *Malassezia furfur* ATCC 14521

*Malassezia furfur* ATCC 14521 reactivada en caldo Sabouraud Dextrosa

FOTOGRAFÍA N°13. Escala McFarland



Escala McFarland



Ajuste de turbidez de cepa aislada con agua destilada a 0.5 según Escala de McFarland

FOTOGRAFÍA N°14. Crecimiento de cepa aislada de *Malassezia furfur* ATCC 14521 con 5 días de incubación a 37°C



FOTOGRAFÍA N°15. Preparación de Agar Sabouraud Dextrosa Modificado



Pesado de Agar Sabouraud Dextrosa



Aceite de maíz usado para modificación de Agar Sabouraud Dextrosa

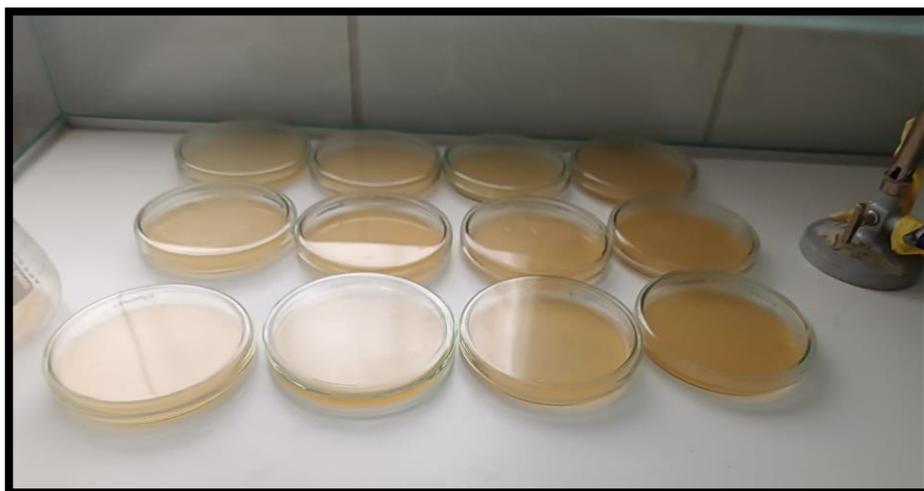
**FOTOGRAFÍA N°16. Preparación de las placas Petri con medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa modificado**



Agar Sabouraud Dextrosa modificado



Preparación de placas de Agar Sabouraud Dextrosa modificado

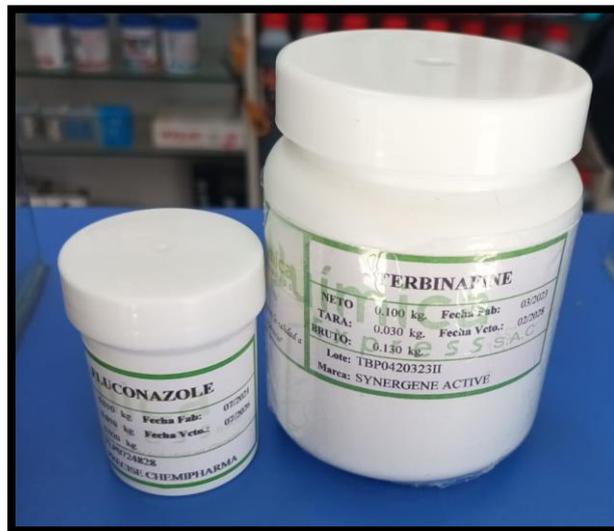


Gelificación de placas de Agar Sabouraud Dextrosa modificado en reposo por 6 horas aproximadamente

FOTOGRAFÍA N°17. Siembra por agotamiento de *Malassezia furfur* ATCC 14521 en placas Petri

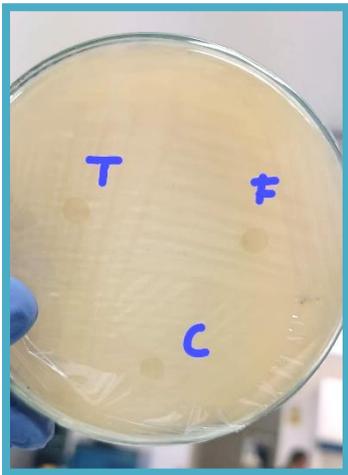


FOTOGRAFÍA N°18. Halos de inhibición con las respectivas concentraciones de Blends de los aceites de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) y fármacos patrón fluconazol y Terbinafina



Fármacos patrón fluconazol y Terbinafina  
usados como patrón

Después de 4 días de incubación, se hizo la medición de los halos de cada concentración y se anotó en la TABLA N°16



Halos de inhibición obtenidos con las respectivas concentraciones de Blends de los aceites de *Satureja boliviana* (Khuñu Muña) y *Luma chequen* (Arrayán) y fármacos patrón Fluconazol y Terbinafina