

# UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



**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 PARA OPTAR AL GRADO DE QUIMICO FARMACEUTICO.

**PRESENTADO POR:**

- Br. OLIVERA DELGADO LIZ INDIRA
- Br. GUTIERREZ FELIX ELIANA GISELLA

**ASESORA:**

- Dra. CARLA DEL CARPIO JIMENEZ

CUSCO-PERU

2021

## **DEDICATORIA**

Este trabajo de investigación va dedicado especialmente a la persona que me hizo quien soy, a ella que me mantuvo de pie todo momento, que me enseñó a seguir adelante sin mirar atrás, mamita Ana María Delgado Loaiza gracias por hacer de mí una mujer fuerte, te llevo y llevaré siempre en el corazón como mi mayor reliquia.

Quiero dedicar también este trabajo a mi papito Wilfredo Olivera Naula, por ser mi amigo incondicional y por ser parte de este nuevo comienzo.

A mi hermano Jael Arturo Olivera Delgado, por darme consejos maravillosos, apoyarme en toda faceta y más aún por ser mi confidente, amigo, sobre todo mi mano derecha.

También quiero dedicar esta investigación a mi enamorado Danny Joseph Quiroga Zanabria, por su amor infinito y nobleza eterna, por ayudarme en todo momento durante esta investigación a no derrumbarme y a seguir adelante.

Atte. Liz Indira Olivera Delgado

## DEDICATORIA

Éste trabajo de investigación va dedicado al ser que se encuentra en todos y cada uno de nosotros, DIOS.

A mis papis JUAN Y ENRIQUETA a su infinita tolerancia y apoyo en todos los momentos de mis días, por mostrarme el camino correcto y a siempre encontrar la luz en mis días de oscuridad.

A mi hija MICAELA por enseñarme que la fortaleza está en todo aquello que se hace con amor y alegría, porque a través de ella pude entender que la vida siempre será una batalla en la cual lo mejor es enfrentarla.

A ti mi querida ALMA GEMELA por todo el apoyo, motivación y entusiasmo que me brindaste, gracias por ser siempre lo mejor de lo mejor.

A las amistades y personas que de alguna forma apoyaron a realizar este trabajo, mi gratitud siempre será infinita para ustedes: Luz Delia, Katia, Laurita, Isabel... ¡Gracias totales amigas!

Atte. Eliana Gisella Gutierrez Felix

## RECONOCIMIENTOS

Ambas manifestamos nuestro más honesto reconocimiento a todas las personas que han colaborado en la realización de nuestra tesis, en especial damos las gracias a nuestra asesora la Dra. Carla del Carpio Jiménez, por aceptarnos su dirección, asesoramiento, amabilidad, dedicación y apoyo en todo momento durante este proceso.

A nuestra prestigiosa Universidad San Antonio Abad del Cusco, por hacernos parte de ella.

A todos nuestros familiares que están siempre presentes, dándonos apoyo incondicional y palabras de aliento para culminar con este proceso y empezar una nueva etapa, gracias por ser nuestro pilar para seguir adelante.

A todos nuestros profesores queridos de la escuela profesional de “Farmacia y Bioquímica” por darnos la educación académica necesaria para poder realizar un trabajo experimental, gracias por su guía y apoyo durante todos estos años.

A nuestros amigos por brindarnos compañía y consejos al momento de realizar la parte experimental, gracias por darse un tiempo para ayudarnos y aconsejarnos con esta tesis.

Atte. Liz Indira Olivera Delgado y Eliana Gisella Gutierrez Felix

## INDICE

DEDICATORIA .....	I
RESUMEN.....	XIX
ABSTRACT.....	XXI
INTRODUCCION .....	XXIII
ABREVIATURAS .....	XXV
CAPITULO I.....	1
ASPECTOS GENERALES.....	1
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	1
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA .....	5
1.3 OBJETIVO.....	6
1.3.1 OBJETIVO GENERAL: .....	6
1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:.....	6
1.4 JUSTIFICACIÓN.....	7
1.4.1 JUSTIFICACIÓN TEÓRICA .....	7
1.4.2 JUSTIFICACION PRÁCTICA .....	8
1.5 HIPÓTESIS .....	9
CAPITULO II.....	10
MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL.....	10
2.1 ANTECEDENTE .....	10
2.1.1 INTERNACIONALES .....	10
2.1.2 NACIONALES.....	11
2.1.3 LOCALES .....	14
2.2 ESTADO DE LA CUESTION.....	17
2.3 BASES TEORICO CIENTÍFICAS.....	20
2.3.1 BACTERIAS EN ESTUDIO: .....	20
2.3.1.1 <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	20
2.3.1.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	20
2.3.1.1.2 GENERALIDADES .....	21

2.3.1.1.3	PATOGENICIDAD .....	21
2.3.1.1.4	IDENTIFICACIÓN.....	21
2.3.1.1.5	TRATAMIENTOS.....	22
2.3.1.2	<i>Pseudomona aeruginosa</i> ATCC 27853 .....	22
2.3.1.2.1	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	22
2.3.1.2.2	GENERALIDADES .....	22
2.3.1.2.3	PATOGENICIDAD .....	23
2.3.1.2.4	IDENTIFICACIÓN.....	23
2.3.1.2.5	TRATAMIENTO .....	23
2.3.2	HONGOS EN ESTUDIO:.....	24
2.3.2.1	<i>Cándida albicans</i> ATCC 90028 .....	24
2.3.2.1.1	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	24
2.3.2.1.2	GENERALIDADES .....	24
2.3.2.1.3	PATOGENICIDAD.....	24
2.3.2.1.4	IDENTIFICACIÓN.....	25
2.3.2.1.5	TRATAMIENTO .....	25
2.3.2.2	<i>Trichopyton rubrum</i> ATCC 28188.....	26
2.3.2.2.1	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	26
2.3.2.2.2	GENERALIDADES .....	26
2.3.2.2.3	PATOGENICIDAD.....	27
2.3.2.2.4	IDENTIFICACIÓN.....	27
2.3.2.2.5	TRATAMIENTO .....	27
2.3.3	PRUEBA DE SENSIBILIDAD MICROBIANA.....	28
2.3.3.1	MÉTODO POR DILUCIÓN.....	28
2.3.3.2	MÉTODO DE DIFUSIÓN.....	29
2.3.4	PLANTAS MEDICINALES.....	29
2.3.4.1	<i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña).....	29
2.3.4.1.1	GENERALIDADES .....	29
2.3.4.1.2	CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	30
2.3.4.1.3	TIPOS DE <i>Minthostachys spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	30
2.3.4.1.4	. COMPOSICIÓN QUÍMICA EN <i>Minthostachys spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	31
2.3.4.1.5	COMPOSICIÓN NUTRITIVA DE <i>Minthostachys spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	31

2.3.4.1.6 ACEITES ESENCIALES.....	31
2.3.4.2 <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN) .....	33
2.3.4.2.1 GENERALIDADES .....	33
2.3.4.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA .....	34
2.3.4.2.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA.....	34
2.3.4.2.4 COMPOSICIÓN NUTRITIVA.....	35
2.3.4.2.5 EXTRACCIÓN .....	35
2.3.5 MEDICAMENTOS USADOS.....	36
2.3.5.1 TERBINAFINA .....	36
2.3.5.2 CIPROFLOXACINO .....	37
2.3.5.3 FLUCONAZOL.....	37
2.3.5.4 VITAMINA C .....	38
2.3.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	38
2.3.6.1 TIPOS DE ANTIOXIDANTES.....	38
2.3.6.1.1 ANTIOXIDANTES PRIMARIOS .....	38
2.3.6.1.2 ANTIOXIDANTES SECUNDARIOS.....	39
2.3.6.2 RADICALES LIBRES .....	39
2.3.6.3 ESTRÉS OXIDATIVO .....	40
2.3.6.4 MÉTODO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	40
2.3.6.4.1 MÉTODO DEL DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL) .....	41
2.4 MARCO CONCEPTUAL .....	42
CAPITULO III.....	43
MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
3.1 MATERIALES .....	43
3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO .....	43
3.1.1.1 MUESTRA VEGETAL .....	43
3.1.1.2 MUESTRA MICROBIANA.....	43
3.1.2 RECURSOS DE INFRAESTRUCTURA PARA EL ESTUDIO .....	43
3.1.3 MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO: .....	43
3.1.3.1 MATERIALES DE CAMPO: .....	43
3.1.3.2 MATERIALES DE LABORATORIO: .....	44
3.1.3.3 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO .....	45

3.1.3.4 SOLVENTES Y REACTIVOS:.....	45
3.1.3.5 MEDIOS DE CULTIVO.....	46
3.1.3.6 FÁRMACO PATRÓN .....	46
3.2 DISEÑO: .....	46
3.2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:.....	46
3.2.1.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....	47
3.2.1.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.....	48
3.3 VARIABLE: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL .....	53
3.3.1 VARIABLES IMPLICADAS:.....	53
3.3.1.1 VARIABLES INDEPENDIENTES: .....	53
3.3.1.2 VARIABLES DEPENDIENTES:.....	54
3.3.2 VARIABLES NO IMPLICADAS: .....	56
3.3.2.1 VARIABLE INTERVENIENTE: .....	56
3.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN .....	61
3.4.1 DE LA PLANTA EN ESTUDIO.....	61
3.4.1.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN.....	61
3.4.1.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN.....	61
3.4.2 DE LAS CEPAS BACTERIANAS.....	61
3.4.2.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN.....	61
3.4.2.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN.....	61
3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS. ....	62
3.6 TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN.....	62
3.7 PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	63
3.7.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE LA INVESTIGACION.....	63
3.8 MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA .....	64
3.8.1 ELECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL .....	64
3.8.2 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD .....	65
3.8.3 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS .....	65

3.8.3.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN).....	65
3.8.3.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	67
3.8.4 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO .....	68
3.8.5 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD.....	68
3.8.6 ANÁLISIS FITOQUÍMICO COLORIMÉTRICO.....	68
3.8.7 CROMATOGRAFÍA DE GASES.....	68
3.8.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS OBTENIDOS.....	69
3.8.8.1 METODOLOGÍA DEL RADICAL “1-1-DIFENIL-2-PICRILHIDRAZIL”.....	69
3.8.8.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN PATRÓN.....	69
3.8.8.1.2 PREPARACIÓN DE LA CURVA REFERENCIAL .....	69
3.8.8.1.3 MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN).....	70
3.8.8.1.4 MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	70
3.8.9 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA MEDIANTE METODO DE DIFUSIÓN DISCOS EN PLACA.....	71
CAPITULO IV.....	75
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	75
4.1 PORCENTAJE DE HUMEDAD DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	75
4.2 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	76
4.3 ENSAYOS PRELIMINARES .....	77
4.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	77

4.3.2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	79
4.3.3 DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 96° DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	80
4.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	81
4.5 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTOMETRIA DE MASAS .....	83
4.6 ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN).....	86
4.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR CAPTACIÓN DEL RADICAL DPPH PARA EL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS</i> <i>SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	88
4.7.1 RESULTADOS DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO .....	88
4.7.1.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO... ..	88
4.7.1.2 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICAL DPPH DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO.....	90
4.7.1.3 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL DE LA CURVA PATRÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO .....	90
4.7.2 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN).....	93
4.7.2.1 CURVA DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN) .....	93
4.7.2.2 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICAL DPPH DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN).....	95

4.7.2.3 VALOR DE CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN 50 (IC50) DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN).....	96
4.7.2.4 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL DE LA CURVA DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN) .....	97
4.7.3 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	99
4.7.3.2 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICAL DPPH DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	101
4.7.3.3 VALOR DE CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN 50 (IC50) DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA).....	102
4.7.3.4 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL DE LA CURVA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>Minthostachys spicata</i> (Q'ESHUA MUÑA) .....	103
4.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 25922 ( <i>E. COLI</i> ), 27853 ( <i>PSEUDOMONA AERUGINOSA</i> ), 90028 ( <i>CÁNDIDA ALBICANS</i> ) Y 28188 ( <i>TRICHOPYTOM RUBRUM</i> ).....	105
4.8.1 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) SOBRE CEPAS ATCC 25922 DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> , Y 27853 DE <i>PSEUDOMONA AERUGINOSA</i> . .....	105
4.8.2 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE <i>TARAXACUM OFFICINALE</i> (DIENTE DE LEÓN) SOBRE CEPAS ATCC 90028 DE <i>CÁNDIDA ALBICANS</i> Y 28188 DE <i>TRICHOPYTOM RUBRUM</i> .....	107
4.8.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 25922 DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> .....	109
4.8.4 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA	

MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 25922 DE <i>ESCHERICHIA COLI</i> FRENTE AL PATRÓN CIPROFLOXACINO.....	110
4.8.5 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 27853 DE <i>PSEUDOMONA AEURUGINOSA</i> .....	114
4.8.6 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 27853 DE <i>PSEUDOMONA AEURUGINOSA</i> FRENTE AL PATRÓN CIPROFLOXACINO.....	116
4.8.7 ACTIVIDAD ANFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 90028 DE <i>CÁNDIDA ALBICANS</i> .....	119
4.8.8 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE ATCC 90028 DE <i>CÁNDIDA ALBICANS</i> FRENTE AL PATRÓN FLUCONAZOL .....	121
4.8.9 ACTIVIDAD ANFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 28188 DE <i>TRICHOPYTON RUBRUM</i> .....	125
4.8.10 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE <i>MINTHOSTACHYS SPICATA</i> (Q'ESHUA MUÑA) Y DEL PATRÓN TERBINAFINA SOBRE CEPAS ATCC 28188 DE <i>TRICHOPYTON RUBRUM</i> .....	126
CONCLUSIONES .....	130
SUGERENCIAS.....	132
BIBLIOGRAFIA.....	134
ANEXOS.....	154
REGISTRO FOTOGRAFICO .....	185

## INDICE DE TABLAS

TABLA N°1: Fuentes comunes de radicales libres y antioxidantes.....	40
---	----

TABLA N°2: Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del patrón ácido ascórbico .....	47
TABLA N°3: Diseño para la evaluación de la capacidad antioxidante del extracto alcohólico al 96% obtenido de las hojas y tallo de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León).....	48
TABLA N°4: Determinación de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico al 96 % de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) frente a cepas ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i> .....	49
TABLA N°5: Determinación de la actividad antibacteriana del Extracto alcohólico al 96 % de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) frente a cepas ATCC 27853 de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	50
TABLA N°6: Determinación de la actividad antifúngica del Extracto etanólico al 96 % de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) frente a cepas ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i> .....	51
TABLA N°7: Determinación de la actividad antifúngica del Extracto etanólico al 96 % de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) frente a cepas ATCC 28188 de <i>Trichopyton rubrum</i> .....	52
TABLA N°8: Variables implicadas .....	58
TABLA N°9: Variables no implicadas .....	60
TABLA N°10: Resultado del porcentaje de humedad de <i>Taraxacum officinales</i> (Diente de león) y <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) .....	75
TABLA N°11: Resultado del porcentaje de rendimiento de Extracto etanólico al 96° de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) y del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua Muña) .....	76

TABLA N°12: Resultado de las características organolépticas de Extracto etanólico al 96° de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) y del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (q'eshua Muña) .....	77
TABLA N°13: RESULTADO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua Muña) .....	79
TABLA N°14: RESULTADO DE SOLUBILIDAD del Extracto etanólico al 96° de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente De León) y del Aceite Esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua Muña).....	80
TABLA N°15: RESULTADO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO del Extracto etanólico al 96° de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) y del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua Muña) .....	82
TABLA N°16: Resumen cromatográfico del Aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua Muña).....	83
TABLA N°17: RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO del Extracto etanólico al 96% de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) .....	86
TABLA N°18: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del patrón ácido ascórbico.....	88
TABLA N°19: Resultado de la actividad antioxidante del patrón ácido ascórbico ....	91
TABLA N°20: Análisis de varianza del patrón ácido ascórbico .....	91
TABLA N°21: Prueba Post Hoc de Duncan para la Actividad antioxidante del patrón Ácido ascórbico.....	92
TABLA N°22: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del extracto etanólico al 96% de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) .....	93
TABLA N°23: Resultado de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) .....	97

TABLA N°24: Análisis de varianza del extracto etanólico al 96% de <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León) .....	97
TABLA N°25: Prueba Post Hoc de Duncan para la Actividad antioxidante del Extracto etanólico al 96% de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León) .....	98
TABLA N°26: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña) .....	99
TABLA N°27: Resultado de la actividad antioxidante del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña) .....	103
TABLA N°28: Análisis de varianza del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña) .....	103
TABLA N°29: Prueba Post Hoc de Duncan para la Actividad antioxidante del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña) .....	104
TABLA N°30: Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) sobre cepas ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i> , Y 27853 DE <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	105
TABLA N°31: Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (DIENTE DE LEÓN) SOBRE CEPAS ATCC 90028 DE <i>Cándida albicans</i> Y 28188 DE <i>Trichopytom rubrum</i> .....	107
TABLA N°32: Resultado de los halos de inbiciòn medido por diámetros del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua Muña) sobre cepas ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i> .....	109
TABLA N°33: Prueba de suceptibilidad microbiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua Muña) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i> .....	110

TABLA N°34: Resultados descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de <i>Escherichia Coli</i> .....	111
TABLA N°35: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre la cepa ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i> .....	112
TABLA N°36: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de <i>Escherichia coli</i> .....	113
TABLA N°37: Resultado de los diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	114
TABLA N°38: Prueba de susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua Muña) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 27853 de <i>Pseudomona aeuruginosa</i> .....	116
TABLA N°39: Resultados descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	117
TABLA N°40: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	118
TABLA N°41: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	118

TABLA N°42: Resultado de los diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i> .....	119
TABLA N°43: Prueba de susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua Muña) y el patrón fluconazol frente a la cepa ATCC 90028 DE <i>Cándida albicans</i> .....	121
TABLA N °44: Resultados descriptivos para la actividad antifúngica del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i> .....	122
TABLA N°45: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antifúngica del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i> .....	123
TABLA N°46: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antifúngica del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de <i>Cándida albicans</i> .....	124
TABLA N°47: Resultado de los diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de <i>Trichopyton rubrum</i> .....	125
TABLA N°48: Prueba de susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua Muña) y el patrón terbinafina frente a la cepa ATCC 28188 de <i>Trichopyton rubrum</i> .....	126
TABLA N°49: Resultados descriptivos para la actividad antifúngica del Aceite esencial de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de <i>Trichopyton rubrum</i> .....	127

TABLA N°50: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum* ..... 128

TABLA N°51: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum*..... 128

### INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1: *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) ..... 30

FIGURA N°2: *Taraxacum officinale* (Diente de león) ..... 34

FIGURA N°3: Método de captación del radical libre del DPPH..... 41

### INDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICA N°1: Resultado de curva de calibración del patrón ácido ascórbico ..... 89

GRÁFICA N°2: Porcentaje de captación del patrón ácido ascórbico ..... 90

GRÁFICA N°3: Resultado de curva de captación de radicales libres del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) ..... 94

GRÁFICA N°4: Porcentaje de captación del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) ..... 95

GRÁFICA N°5: Resultado del valor de concentración de inhibición del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) ..... 96

GRÁFICA N°6: Resultado de curva de captación de radicales libres del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) ..... 100

GRÁFICA N°7: Porcentaje de captación del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) ..... 101

GRÁFICA N°8: Resultado del valor de concentración de inhibición del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) ..... 102

### INDICE DE FLUJOGRAMAS

FLUJOGRAMA N°1: Procedimiento general ..... 63

FLUJOGRAMA N°2: Obtención de extracto ..... 66

FLUJOGRAMA N°3: Obtención del aceite esencial ..... 67

FLUJOGRAMA N°4: Análisis fitoquímico colorimétrico ..... 68

FLUJOGRAMA N°5: Actividad antioxidante procedimiento ..... 71

FLUJOGRAMA N°6: Actividad antimicrobiana procedimiento ..... 74

## RESUMEN

El objetivo de nuestro trabajo estuvo representado por “evaluar el poder antioxidante y la actividad antimicrobiana “in vitro” del extracto etanólico al 96 % de hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial obtenido de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña)” sobre las siguientes cepas ATCC: 25922 *E. coli*, 27853 *Pseudomonas aeruginosa*, 90028 *Cándida albicans* y 28188 *Trichopytom rubrum*; para lo cual se obtuvo el extracto por maceración y posterior concentración y el aceite esencial mediante “destilación por arrastre de vapor”.

Una vez obtenido el extracto se evaluaron las características fisicoquímicas, organolépticas, fitoquímicas, se hizo el respectivo control microbiológico, se evaluó el poder antioxidante con el método de Brand-Williams expresado como la captación del radical libre de DPPH de y la actividad antibacteriana y antifúngica por difusión en agar disco-placa, mediante el método de sensibilidad por Kirby Bauer. Del mismo modo para el aceite esencial se determinó la composición química por cromatografía de gases, se realizaron pruebas organolépticas, fisicoquímicas, control microbiológico y se evaluó la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica, con la misma metodología.

Según los resultados obtenidos el extracto presentó un porcentaje de humedad de 83.76%, un rendimiento de 7.66%, abundante cantidad de alcaloides, lactonas y esteroides, ausencia de flavonoides, quinonas y saponinas, demostró tener una alta actividad antioxidante in vitro con un 75.24% con una concentración de 4 mg/mL y finalmente ausencia de actividad antibacteriana y antifúngica. En cuanto al aceite esencial se obtuvo un porcentaje de humedad de 75.39%, un rendimiento de 0.25%, presencia mayoritaria de pulegona y L-mentona, alta actividad antioxidante con un 73.60% a 32 mg/mL, mayor actividad antibacteriana frente a la Cepa ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* y excelente actividad antifúngica frente a la Cepa ATCC 28188 *Trichopytom rubrum*.

Entonces se concluye que el extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) presenta alta actividad antioxidante in vitro, mas no actividad

antibacteriana, ni antifúngica. Y que el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) presenta alta actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica.

PALABRAS CLAVE: *Taraxacum officinale* (Diente de león), *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), ATCC, *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Candida albicans* y *Trichopytom rubrum*, extracto etanólico al 96%, aceite esencial, Antioxidante, Antibacteriano, susceptibilidad antimicrobiana.

## ABSTRACT

The objective of our work was represented by evaluating the antioxidant and antimicrobial activity in vitro of the 96% ethanolic extract of the leaves and stems of *Taraxacum officinale* (Dandelion) and the essential oil obtained from the leaves of *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña ) on the following ATCC strains: 25922 *Escherichia coli*, 27853 *Pseudomona aeruginosa*, 90028 *Candida albicans* and 28188 *Trichopytom rubrum*; For which the extract was obtained by maceration and subsequent concentration and the essential oil by means of the steam distillation method.

Once the extract was obtained, the physicochemical, organoleptic and phytochemical characteristics were evaluated, the respective microbiological control was carried out, the antioxidant activity was evaluated with the Brand-Williams method expressed as the uptake of the DPPH free radical and the antibacterial and antifungal activity by diffusion on disk-plate agar, using the sensitivity method by Kirby Bauer. In the same way, for the essential oil, the chemical composition was determined by gas chromatography, organoleptic, physicochemical, microbiological tests were carried out and the antioxidant, antibacterial and antifungal activity was evaluated, with the same methodology.

According to the results obtained, the extract presented a humidity percentage of 83.76%, a yield of 7.66%, abundant amount of alkaloids, lactones and steroids, absence of flavonoids, quinones and saponins, it showed to have a high antioxidant activity in vitro with 75.24% with a concentration of 4 mg / mL and finally absence of antibacterial and antifungal activity. Regarding the essential oil, a humidity percentage of 75.39% was obtained, a yield of 0.25%, the majority presence of pulegone and L-mentone, high antioxidant activity with 73.60% at 32 mg / mL, greater antibacterial activity against the strain ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa* and excellent antifungal activity against Strain ATCC 28188 *Trichopytom rubrum*.

Then it is concluded that the 96% ethanolic extract of *Taraxacum officinale* (Dandelion) has high antioxidant activity in vitro, but not antibacterial or antifungal

activity. And that the essential oil of *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) has high antioxidant, antibacterial and antifungal activity.

KEY WORDS: *Taraxacum officinale* (Dandelion), *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), ATCC, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* and *Trichophyton rubrum*, 96% ethanolic extract, essential oil, Antioxidant, Antibacterial, antimicrobial susceptibility.

# INTRODUCCION

Son muchos los años que han pasado desde que el hombre utilizó las plantas medicinales, con fines curativos, por lo que forman parte hoy en día de historia ancestral y moderna. Hay reportes de un 74 % de los fármacos usados actualmente que indican ser creados por su empleo en la medicina tradicional en diversos países, además, se ha logrado determinar que el uso de compuestos químicos provenientes de plantas nos brinda la opción de hallar principios activos que son útiles para el uso farmacoterapéutico. <sup>(1)</sup>

La amplia historia que presenta la medicina tradicional a través de los años ha proporcionado hasta la actualidad recursos de gran utilidad para el tratamiento de diversas patologías a nivel mundial <sup>(2)</sup>, es así que, se reporta que alrededor de un 60% - 80% de personas en el mundo utilizan las plantas medicinales para curar dolencias básicas, <sup>(3)</sup> pese a ello, el desarrollo de investigaciones de estos aun es limitada, por lo que es necesario buscar la manera de realizar nuevos estudios para que las personas utilicen esta materia con bases teóricas estudiadas. <sup>(4)</sup>

Se ha demostrado que el uso indiscriminado de estas se da por su alta demanda y gran efecto sobre diferentes enfermedades tanto así que se recomienda no solo como alternativa en los hospitales sino también como instancia principal antes de tomar medicinas fabricadas muchas veces de manera sintética. <sup>(5)</sup>

Sabemos que existen estudios limitados aun sobre las plantas medicinales, pese a ello se han demostrado en muchas investigaciones que los extractos obtenidos por distintos métodos confieren a la planta cualidades curativas frente a diversas enfermedades, entre estos, principios activos que ayuden con el dolor, la inflamación, náuseas, vómitos y últimamente como fuente antioxidante y antibacteriana. <sup>(6)</sup>

Dos de los grandes problemas que enfrenta nuestro mundo con respecto a la salud es el aumento de la resistencia microbiana y la producción de radicales libres exacerbadas en nuestro organismo; frente a ello como fuente de solución se ha desarrollado investigaciones que demuestren tener efectividad para combatir ambos problemas a partir de materia vegetal, <sup>(7)</sup> los cuales se han demostrado que

pueden ser usados como antibióticos y como antioxidantes, siendo este último el mayor reto para los investigadores, pues se ha visto que estos pueden combatir la acción de “los radicales libres” evitando en el organismo problemas celulares o aparición de diversas afecciones relacionadas a la producción de radicales inestables como derrames, cáncer, vejez prematura, etc.<sup>(8)</sup>

En nuestra región, son muy limitadas las investigaciones que ayuden a comprender más los compuestos químicos extraídos de diversas especies vegetales; <sup>(6)</sup> por ello en esta investigación se desea evaluar la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica del extracto etanólico al 96 % de los tallos y hojas de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de la hojas de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña), esperando con ello dar un aporte significativo a futuras investigaciones, para poder lidiar con los problemas actuales que tanto la salud requiere. Además, contribuir con la posibilidad de una validación científica y su disponibilidad en el mercado como fármaco, proporcionando así una gran ayuda a la población para el tratamiento contra infecciones bacterianas, antifúngicas y como antioxidantes de manera efectiva.

## ABREVIATURAS

BHA: Hidroxiamisal butilado

BHT: Hidroxitolueno butilado

ETEC: Enterotoxigénica

EHEC: Enterohemorrágica

EIEC: Enteroinvasiva

EPEC: Enteropatogénica

EAEC: Enteroagrgativa

DAEC:Adherencia-difusa

# CAPITULO I

## ASPECTOS GENERALES

### 1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según la OMS “Organización Mundial de la Salud”, aproximadamente el ochenta por ciento de las personas de los países en desarrollo utiliza las plantas de manera habitual como principal remedio para satisfacer sus necesidades de atención primaria de salud. <sup>(9)</sup> Es por ello, que la OMS indicó que el uso de medicinas tradicionales como interés primario debe darse siempre y cuando éstas hayan demostrado su utilidad y representen un riesgo mínimo para la salud, por lo que se requiere que gran parte de las plantas que carecen de investigaciones demuestren científicamente que sus principios activos tengan efectos sobre la salud en la población. <sup>(10)</sup>

Durante décadas los antimicrobianos (ATM) han sido de gran ayuda para el tratamiento de diversas enfermedades, pues con ellos se ha podido controlar el crecimiento exacerbado de bacterias de todo tipo; logrando salvar infinidad de vidas, así como también ser un gran apoyo en la atención y mejoramiento en la calidad de vida de los pacientes, pero lo triste es que actualmente una de las mayores amenazas para la salud pública es la resistencia a estos, debido a su uso indiscriminado y mal informado, para lo cual se ha visto la necesidad ya obligada de buscar métodos que ayuden a controlar esta situación y no entrar a la denominada “era post antibiótica”, donde ningún antibiótico podrá tener lugar en el tratamiento de enfermedades infecciosas generando grados de mortalidad elevadas.<sup>(11)</sup> Dado este hecho, se considera la llegada de unos 700,000 fallecidos en todo el mundo por causa de infección recurrente dado por la resistencia a los antimicrobianos y para el 2050 un aproximado de 10 millones de personas por año; además se ha determinado que la mortalidad por infecciones, generaría pérdidas económicas de hasta \$100 trillones. <sup>(12)</sup>

Para el 2017 se creía que las infecciones asociadas a la atención de salud que involucraban bacterias multiresistentes por el uso indiscriminado de antibióticos, representaban uno de los principales conflictos de salud para los hospitales ya

sean privadas o públicas o en países desarrollados como en vías de desarrollo. (13) Pero es importante mencionar que según investigaciones dadas en la guía terapéutica de antimicrobianos (antibióticos, antifúngicos y antivirales) de España, en el año 2018 según Palacios y Rodríguez las infecciones que involucran gérmenes multirresistentes se originan mayoritariamente en la comunidad, pero es, en el ámbito intrahospitalario donde se detectan y proliferan en gran proporción. (14) Por tanto una correcta prescripción médica sobre los ATM “antimicrobianos” es de vital relevancia para evitar la proliferación de algún patógeno, por otro lado, si consideramos lo que propuso la OMS, en un informe del 85’, frente a reportes actuales, nos podemos percatar que existen diferencias significativas en cuanto al uso de antibióticos, pues en el reporte de 1985 se determinó que “el uso racional de medicamentos requiere que el paciente reciba la medicación apropiada a su necesidad clínica en las dosis correspondientes con sus requerimientos individuales, por un periodo adecuado de tiempo y al menor costo para él y su comunidad”. (13) Pero para el 2001 se deslindó como “el uso apropiado de antimicrobianos como el uso costo-efectivo de los antimicrobianos lo cual maximiza su uso terapéutico, mientras minimiza tanto los efectos tóxicos de la droga como el desarrollo de resistencia”. (15)

El 2015, la “Asamblea Mundial de la Salud” buscando la solución a este problema instauró un mecanismo estratégico para evitar la resistencia bacteriana, los cuales constaban de 5 propósitos: concientizar, brindar información, fortalecer vigilancia, evitar recurrencia, mejorar el uso de ATM y garantizar inversiones. (11)

Ahora si nos basamos en Perú, según la “Norma técnica de prevención y control de infecciones intrahospitalarias del Minsa”, el comité de las infecciones asociadas a la atención de salud son los responsables de verificar un correcto uso racional de antibióticos, donde ellos refieren que los ATM deben ser agrupados en “controlados y no controlados”, con puntos rigurosos de clasificación para un correcto uso, pero si logramos ver la realidad, hasta el momento se hace caso omiso a dichos reglamentos. (16) Hoy por hoy según la OMS estamos inmersos en una estrategia que nos ayudaría afrontar esta problemática contra la “resistencia microbiana” donde se espera obtener resultados que garanticen la seguridad de salud pública, estrategia que fue elaborada a principios del año 2017 y propone ser efectiva hasta el 2021. (17)

Para ello según los reportes en los últimos años, se ha logrado demostrar que la resistencia antimicrobiana disminuye lentamente, con cierta cautela y concientización por parte de los centros de salud. <sup>(18)</sup>

Bibliográficamente se logra ver que las estrategias propuestas se administran de forma cautelosa mediante gestiones intrahospitalarios, pero hoy por hoy a pesar de haber tomado cartas en el asunto e incursionar en planes estratégicos para combatir el URA como vimos anteriormente, la falta de sensibilidad y conciencia ante el tema sigue desfavoreciendo las estadísticas sobre los ATM, llevando a los investigadores a tomar decisiones ya obligadas sobre la búsqueda de obtención de ATM que tengan un poder de acción incrementado y que sean difíciles de generar resistencia ante un patógeno determinado. <sup>(16, 17,18)</sup>

Todo lo mencionado hasta ahora sumado al estilo de vida que mantenemos hoy en día, donde nos encontramos con un mundo rodeado de contaminación dando como claros ejemplos la exposición a los rayos UV, el uso constante de nicotina, nuevas disposiciones por la comida rápida y desbalance dietético, escaso deporte y trabajo exagerado y estresante son tan solo algunos ejemplos que demuestran exponer a las células del cuerpo humano formar una gran cantidad de radicales libres, quienes causan daño en las células a través de diversos mecanismos tales como, la unión covalente y la peroxidación lipídica. <sup>(9)</sup> Es por ello que se requiere obtener eficientes secuestradores de radicales libres, o sea antioxidantes, compuestos capaces evitar la formación exacerbada de “radicales libres”, poniendo en riesgo total la salud si no los consideramos como parte de nuestra dieta diaria, ya que, la falta de estos podrían generar lo que se conoce como un “estrés oxidativo”, situación perjudicial para la salud pues está relacionado con la formación de varias enfermedades como: “diabetes, cataratas, arterioesclerosis, hipertensión arterial, etc.” <sup>(19)</sup> Además, se ha podido observar en la industria la eliminación de dos de los antioxidantes sintéticos que teníamos antes y de gran uso; el Butilhidroxianisol y el Butilhidroxitolueno que han reportado acción carcinogénica. Por tal motivo la necesidad de buscar antioxidantes provenientes de materia vegetal ha aumentado notoriamente, en especial los componentes principales como los flavonoides, fenoles, quienes han mostrado ser beneficiosos frente a muchas actividades ya sean “antialérgicas”, “antimicrobianas”, “antivirales”, etc. <sup>(20)</sup>

Por lo mencionado, en la actualidad, existe un notable interés por hallar plantas que posean propiedades benéficas para la salud, capaces de eliminar bacterias y que nos protejan de sustancias reactivas del cuerpo, es decir, de los radicales libres. Las plantas poseen un numeroso grupo de antioxidantes como polifenoles tales como los ácidos fenólicos, flavonoides, lignanos, taninos, etc. Por esta razón, es necesario conocer el efecto antioxidante de las plantas utilizadas en la medicina tradicional. <sup>(9)</sup>

El Perú cuenta con una flora muy variada y abundante en la que se hallan numerosas especies con propiedades medicinales, Cusco representa a uno de los departamentos con mayor uso de plantas medicinales, de manera muy frecuente, dos grandes ejemplos son el *Taraxacum officinale* (Diente de león) y el *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña), que se escogieron por su fácil acceso y porque mantienen propiedades que benefician en masa la salud poblacional, tal es el hecho que se utiliza en la medicina complementaria a través de infusiones como desinflamante para las amigdalitis y faringitis, cólicos, dolores abdominales, como hepatoprotectores, etc. sin representar un riesgo mínimo para la salud, cumpliendo así con lo establecido al inicio por la OMS. Sin embargo, aún existe la necesidad de búsqueda de agentes específicos para curar ciertas enfermedades, como las provocadas por bacterias y hongos generando infecciones resistentes, los cuales aún no tienen un tratamiento adecuado. <sup>(21)</sup> Es por ello que, con este estudio, se pretende “evaluar la actividad antibacteriana y antifúngica sobre cuatro cepas ATCC y determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de hojas de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)”, lo que servirá para recomendar su utilización en la prevención de enfermedades degenerativas y en el tratamiento de infecciones, y con ello dar una mejor propuesta de vida a la población y disminuir la resistencia antimicrobiana a los fármacos convencionales, contribuirá además al desarrollo de más investigaciones sobre estas especies, permitiendo en un futuro la posibilidad de su validación científica, producción y venta como fármaco y dando una nueva opción económica para la ayuda contra infecciones bacterianas, fúngicas y antioxidantes.

Es así que todo lo mencionado nos conlleva a realizar la siguiente formulación del problema.

## **1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA**

¿Presentarán actividad antimicrobiana frente a cuatro cepas ATCC y actividad antioxidante el extracto etanólico al 96% de las hojas y tallo de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)?

## 1.3 OBJETIVO

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL:

- Determinar la actividad antimicrobiana sobre cuatro cepas ATCC “*Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Trichopyton rubrum*” y actividad antioxidante del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña).

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Extraer el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña) por “destilación por arrastre de vapor”, el extracto etanólico al 96% de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) por concentración a evaporación, determinar el porcentaje de rendimiento y evaluar las características organolépticas de ambas plantas.
2. Determinar las características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña)
3. Determinar la composición química para el aceite esencial de hojas de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña) utilizando cromatografía de gases y del extracto etanólico al 96% de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) por análisis fitoquímico cualitativo.
4. Evaluar la capacidad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña), mediante el método espectrofotométrico de captación del radical DPPH de Brand-Williams.
5. Determinar la sensibilidad antibacteriana “in vitro” del extracto etanólico obtenido de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial obtenido de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña) por difusión en agar con el método de sensibilidad por Kirby Bauer frente a cepas ATCC de *Escherichia coli* y *Pseudomona aeruginosa* y comparar con ciprofloxacino como control positivo.
6. Determinar la sensibilidad antifúngica in Vitro del extracto etanólico y del aceite esencial por el método difusión de discos por Kirby Bauer frente a

cepas ATCC de *Cándida albicans* y *Trichopyton rubrum* y comparar con fluconazol y Terbinafina como control positivo respectivamente.

## 1.4 JUSTIFICACIÓN

### 1.4.1 JUSTIFICACIÓN TEÓRICA

Día a día la revalorización y puesta en uso de nuestros recursos naturales por parte de los investigadores son más que necesarios, debido a las circunstancias en las que se encuentra la población a nivel socioeconómico. <sup>(22)</sup> Siendo más palpable en las poblaciones cuyos recursos son limitados y tienen mayor vulnerabilidad a un inadecuado tratamiento frente a patógenos infecciosos, ya sea por el excesivo costo de producción y venta o por la falta de información que se maneja en estos lugares, por lo que, este hecho está generando un aumento de la resistencia de los microorganismos productores de las enfermedades infecciosas,<sup>(23)</sup> y con ello una nueva era sin antibióticos resistentes, lo que demanda una preocupación frente a la salud pública, además de un aumento de enfermedades infecciosas y la dificultad para poder acceder a las medicinas, dejando como principal recurso de algunas poblaciones, el uso de plantas medicinales, a las que acceden sin ninguna certeza teórico-científico de sus propiedades, solo porque son más económicas y las tenemos a fácil disposición.<sup>(24)</sup> Es por ello, que esta problemática se ha convertido en una necesidad prioritaria para demostrar experimentalmente la actividad exacta que estas presentan, por lo que en, este trabajo se pretende beneficiar a la población en general y a las industrias farmacéuticas permitiendo fortalecer las opciones para el uso de los antimicrobianos y las propiedades de las plantas que en este caso serán *Taraxacum officinale* (Diente de león) y de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), para disminuir la resistencia bacteriana y dar un valor agregado a futuras investigaciones.

Se ha logrado determinar que durante la formación de radicales los antioxidantes son capaces de actuar evitando a toda costa y en todo momento la oxidación del producto formado. <sup>(25)</sup> Además, desde el punto de vista fitoquímico se mostró que los componentes que logran este efecto son los taninos, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas,

xantonas, etc, utilizando su función “redox” principalmente para estabilizar las cadenas de radicales libres donando un hidrógeno y así evitar alteraciones en cadenas de lípidos, carbohidratos, proteínas y con ello la formación de “enfermedades degenerativas”, <sup>(26)</sup> como: “cáncer, problemas cardiacos, cerebrales, rápido envejecimiento, etc.” <sup>(27,28)</sup> Es así que de esta manera la importancia por la búsqueda de antioxidantes provenientes de plantas ha aumentado radicalmente y más aún por las 03 razones que describiremos a continuación: la poca confiabilidad que tienen los antioxidantes de origen sintético, entre ellos 2-terbutil-hidroxitolueno (BHT) y 2-terbutil-hidroxianisol (BHA), la virtud que poseen las plantas medicinales como antioxidantes y el hecho de que una planta con propiedad antioxidante puede actuar de forma beneficiosa frente a un problema de salud crónico o en la demora del envejecimiento, agregado a todo ello la idea de que estos brindan una mayor confiabilidad por ser naturales y no presentar efectos adversos con el tiempo, es así que todos estos puntos los vuelven más buscados y usables en distintos rubros para la industria. <sup>(29)</sup>

Por lo que en este estudio se desea “evaluar el poder antioxidante del extracto etanólico que se extraerá de hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y el aceite esencial de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña)”, con la finalidad de generar un aporte significativo a futuras investigaciones, puesto que, estos radicales día a día van realizando degeneración celular provocando alteraciones en la transcripción del ADN. <sup>(30)</sup>

#### **1.4.2 JUSTIFICACION PRÁCTICA**

La razón fundamental considerada para la realización de este trabajo es conocer de modo conveniente los beneficios y limitantes que puedan tener las especies *Taraxacum officinale* (Diente de león) y *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña), con el fin de poder utilizarla confiablemente, ser accesible a gran parte de la población por su accesibilidad en precios y su gran alcance en nuestro país, <sup>(31)</sup> este criterio se da por las últimas estimaciones de la OMS, quienes indican que un 80 % del mundo utiliza las plantas medicinales como primera instancia para salvaguardar su bienestar. <sup>(32)</sup>

## 1.5 HIPÓTESIS

El extracto etanólico al 96% extraído de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), tienen actividad antioxidante y antimicrobiana in vitro frente a cuatro cepas ATCC “*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Trichopyton rubrum*”.

## CAPITULO II

### MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

#### 2.1 ANTECEDENTE

##### 2.1.1 INTERNACIONALES

- **Rodríguez, Zarate y Sánchez. “Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia” - 2018.** <sup>(33)</sup>

El objetivo de esta investigación fue determinar la acción antibacteriana del extracto de las siguientes especies: “*sambucus nigra*”, “*Bauhinia sp.*”, “*eichhornia crassipes*” y “*taraxacum officinale*” contra las bacterias intrahospitalarias, para lo cual se obtuvieron extractos crudos etanólicos por concentración a rotaevaporación, se hizo un “análisis fitoquímico” y se dividieron los componentes por “cromatografía de gases”, obteniendo como resultado “saponinas”, “fenoles”, “terpenos”, “quinonas”, “flavonoides” y “alcaloides” que de acuerdo a otras investigaciones son las responsables de dar efecto antimicrobiano. Para el caso de los ensayos de la sensibilidad microbiana se obtuvo en el extracto de hojas de *taraxacum officinale* frente a *Streptococcus pneumoniae* presentó buena actividad a 1000 µg/µl con un halo de inhibición de 14.5 mm; el extracto de tallos de *taraxacum officinale* frente a *E. faecum* presentó mejor actividad a 1000 µg/µl con un halo de inhibición de 22 mm, y frente a *E. coli* presentó buena actividad a 1000 µg/µl con un halo de inhibición de 11 mm; las hojas de *Baubina Sp.* Presentaron una buena actividad a 1000 µg/µl con un halo de 11.5 mm, el extracto de las hojas de *E. crassipes* a 1000 µg/µl se obtuvo halo de 15 mm para *P. rettgen* y 18 mm para *P. aeruginosa*; y por ultimo para el extracto de *S. nigra* a concentración de 1000 µg/µl se obtuvo una inhibición de 20 mm para *S. aureus* y a una concentración de 25 µg/µl se obtuvo buena actividad frente a *C. albicans* con un halo de 14 mm; por lo que concluye como más eficaz los tallos de *Taraxacum officinale* y que los extractos obtenidos ayudarían en el tratamiento para infecciones intrahospitalarios. <sup>(33)</sup>

- **Tapia J. “Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y sub-extractos clorofórmico y etéreo de *Senna multijuga*, *Tagetes zipaquirensis* y *Coursetia dubia*” Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Ecuador 2012. <sup>(34)</sup>**

El objetivo fué que a través de la extracción etanólica, etérea y clorofórmica a 10000, 1000 y 10 µg/mL de “*Senna multijuga*” y “*Coursetia dubia*” se evalúe la acción antibacteriana y fúngica sobre cepas ATCC de “*E. coli*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *S.gallinarum*, *K. pneumoniae* y *C. albicans*”. En caso de la actividad antimicrobiana aplicaron el test de Mistcher, dando como resultados para *Senna multijuga* lo siguiente: sub-extracto etéreo, gran inhibición frente a *C. albicans*; el extracto a partir de cloroformo acción media sobre *C. albicans* y *P. aeruginosa*, en el caso de *Tagetes zipaquirensis* lo siguiente: extracto etanólico inicial buena acción frente a *C. albicans*, el sub-extrato etéreo actividad frente a las cinco cepas estudiadas, a excepción de *E. coli*. Y finalmente para *Cousetia dubia*: el extracto etanólico inicial, final y con éter demostró acción media sobre *C. albicans*. Y por último concluyó que las 6 cepas eran susceptibles frentes a todos los extractos y todas las especies vegetales. <sup>(34)</sup>

### 2.1.2 NACIONALES

- **Barba Carrión, Beatriz Edith. “Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (MUÑA), sobre *Salmonella*, comparado con Cotrimoxazol” Trujillo \_ Perú – 2019. <sup>(35)</sup>**

El objetivo era determinar la acción antimicrobiana in-vitro del “aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña)” frente a “*Salmonella*” en comparación a “cotrimoxazol”, en este caso utilizaron “destilación por arrastre de vapor” con el fin de obtener el aceite, luego mezclaron el aceite con DMSO para obtener concentraciones al cincuenta, setenta y cinco y cien por ciento, con ello determinaron la actividad antimicrobiana por “difusión en agar disco-placa”, como resultados se consiguió alta susceptibilidad al 100 % con un halo de inhibición de 27,67 mm y demasiada susceptibilidad al patrón “cotrimoxazol”, generando un analogía entre los resultados siendo a > concentración de

extracto > será el efecto. Así que, en conclusión, el “aceite esencial de muña”, mostró actividad antimicrobiana frente a “*salmonella*”.<sup>(35)</sup>

- **Zuta Arriola, Noemi.** “Efectividad antioxidante, antibacteriana Y moduladora del extracto alcohólico de hojas de *Pelargonium hortorum* (Geranio) Frente A *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple” Perú – Callao, 2019.<sup>(36)</sup>

El objetivo de la investigación fué evaluar la actividad “antibacteriana, antioxidante y moduladora” del extracto hidroalcohólico del “Geranio” frente a “*S. aureu*”. Para lo cual se realizó un estudio experimental de control aleatorizado, con 3 réplicas: manipulación, observación y medición. Se prepararon los extractos alcohólicos de hoja secas de *Pelargonium hortorum* “Geranio”, en los que se determinó cualitativamente la presencia de compuestos bioactivos. De igual manera, se determinó la propiedad mediante el fundamento del “radical 2,2-difenil-picril-hidracilo” y la actividad antibacteriana y moduladora a través del método de microdilución en placa, obteniendo como resultados una alta cantidad de antocianinas, flavonoides, cardenolidos, taninos, azúcares reductores y fenoles, por lo que pudo presentar una mejor actividad antioxidante frente a la vitamina C. El extracto alcohólico de las hojas de *Pelargonium hortorum* “Geranio” inhibieron el crecimiento bacteriano de *Staphylococcus aureus* con resistencia múltiple con diámetros de inhibición mayor a 20 mm y con una concentración mínima inhibitoria de 250 µg/ml. Asimismo, este extracto presentó acción sinérgica sobre la actividad de la gentamicina frente a cepas de *Staphylococcus aureus* de resistencia múltiple y ATCC 25923, lo mismo se observó con el ciprofloxacino. Por lo que se concluyó que *Pelargonium hortorum* “Geranio” contiene una mayor capacidad antioxidante que la vitamina C. y una actividad antibacteriana frente a cepas de *Staphylococcus aureus* resistente a antibióticos y modulan la actividad antibiótica del Ciprofloxacino y Gentamicina.<sup>(36)</sup>

- **Cinthia Karina , Reaño Ortega.** “Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia tiphylla* (Cedrón), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Mentha spicata* (Hierba buena), *Portulaca oleraceae*

**(Verdolaga) y *Taraxacum officinale* (Diente de león)” Universidad nacional de Trujillo - Peru - 2014. <sup>(37)</sup>**

En dicho trabajo de investigación se determinó la acción antimicrobiana “in vitro” del extracto etanólico de las siguientes especies: “Cedrón”, “Romero”, “Hierbabuena”, “Verdolaga” y “Diente de león”, sobre las cepas ATCC de “*E. coli*, *Sthapylococcus* y *Salmonela enteriditis*”. Se realizó el procedimiento siguiendo lo propuesto por kirby-bauer, cambiando los discos por pozos excavados, en agar Mueller hinton. Como patrón se utilizó “Azitromicina 30 µg” y “Cloranfenicol 10 µg” en disco, una vez sembrado se incubó a 37 °C y se leyeron los halos pasadas las 24 horas, como resultado se deslindó que los extractos de “Romero” y “Hierba buena” a 10 mg/mL mostraron efecto solo frente a *Sthapylococcus aerus*, por otro lado, “Verdolaga” y “Diente de león” a 10 mg/mL, no tuvieron efecto sobre ninguna cepa. <sup>(37)</sup>

- **Asto R. “Efecto antibacteriano *in vitro* del aceite esencial de *Schinus molle* L. (molle) frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas” Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa - 2014. <sup>(38)</sup>**

El fin de esta investigación consistió en evaluar la actividad antimicrobiana del “aceite esencial” de *Shinus molle* L. “molle” sobre cepas ATCC Gram negativas “*E. coli* 25922 y *P. aeruginosa* 27853” y Gram positivas “*S.aureus* 25923 y *Enterococcus faecalis* 29212”. Se obtuvo el aceite por destilación por arrastre de vapor con agua. El efecto bacteriano *in-vitro* se determinó mediante macrodilución en caldo y posterior siembra en agar, encontrándose como resultados 12.5µL/mL y 50µL/mL en *Escherichia coli* para la CMI y CMB respectivamente, 50µL/mL para *Pseudomona aeruginosa* en ambos casos, 12.5µL/mL para *Staphylococcus aureus* en ambos casos, finalmente 25µL/mL y 50µL/mL para *Enterococcus faecalis* para la CMI y CMB respectivamente, encontrándose que el mayor efecto obtenido fue frente a *Staphylococcus aureus* en cuanto a ambos parámetros evaluados (CMI y CMB). La sensibilidad se evaluó por el método de difusión en hoyo-placa evaluando diferentes volúmenes de aceite esencial puro en el halo inhibitorio, entre las bacterias en estudio la cepa más sensible fue *Staphylococcus aureus* obteniéndose halos de inhibición mayores al resto con pequeños volúmenes

de aceite esencial, en tanto que la cepa menos sensible fue *Pseudomona aeruginosa* la cual requirió de volúmenes mayores de aceite esencial en relación a las demás cepas. En cuanto a la dosis letal media del aceite esencial frente a *Artemia salina* fue de 0.5142 $\mu$ L/mL o 431.9ppm, presentando una toxicidad intermedia. <sup>(38)</sup>

### 2.1.3 LOCALES

- **Velazque Carrasco, Juan Carlos. “Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente *Trichophyton rubrum* ATCC 28188”. UNSAAC – 2019. <sup>(39)</sup>**

La finalidad del estudio se dio por determinar la actividad antifúngica “in vitro” del “aceite esencial” de “*Origanum vulgare* L.” con presentación farmacéutica de esmalte de uñas sobre “*T. rubrum*”, mediante el método de destilación por arrastre de vapor, la composición química fué determinado por “cromatografía de gases acoplado a espectro de masas”. La actividad antimicótica y la concentración mínima inhibitoria se realizó por el método de difusión en discos. Del mismo modo se procedió para el esmalte de uñas, donde se evaluaron las características fisicoquímicas, organolépticas, control microbiológico, tiempo de secado, suavidad para fluir y penetración de uñas. El resultado de rentabilidad del aceite esencial fue de 0.82%, las composiciones más resaltantes del aceite esencial fueron: Terpeneol, cis-a 18.46 %, Timol 12.38 % y Ácido antranílico y se obtuvo una densidad de 0.8454 g/mL, índice de refracción 1.3872, índice de saponificación 0.0102, índice de acidez 0.8265 g y rotación óptica 0.542. La actividad antifúngica del aceite esencial de orégano obtuvo como resultado una CMI de 70% mostrando un halo de 9.75 mm frente a *T. rubrum*. Luego se realizó seis formulaciones y se evaluó la actividad antimicótica, el esmalte de quitosano al 2% con aceite esencial al 70% fue el que presentó mayor halo de inhibición 12.5 mm, mejores características organolépticas, fisicoquímicas y estudios de estabilidad, penetración de uña que presento un halo de 11.95 mm, suavidad de fluir 14 segundos, tiempo de secado 4 minutos. En conclusión, el esmalte en base al aceite esencial de *Origanum vulgare* L. con quitosano al 2% y

aceite esencial al 70% fué el que mostró mayor actividad antimicótica frente a *Trichophyton rubrum*, por lo cual puede ser considerado como un complemento natural para el tratamiento de la Onicomicosis. <sup>(39)</sup>

- **Espinoza Mormontoy, Alejandra Lida. “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*”. UNSAAC - 2018. <sup>(40)</sup>**

El fin de este trabajo se determinó por evaluar la “actividad antioxidante” con el DPPH y antimicrobiana en pocillos “in vitro”, dado por el extracto etanólico 70 % de “*Ccori kisa*” obtenidas por concentración a evaporación, frente a cepa ATCC y aislada de *S. aureus*. Como resultados obtuvieron del extracto una “humedad” de 43,69 %, rentabilidad de 34.19 %, naturaleza polar y presencia de “flavonoides”, “lactonas”, “taninos”, “bastantes azúcares reductores”, “quinonas” y “aminoácidos”. Se determinó un 90.69 % de “captación de radicales libres” a 100 µg/mL. Se obtuvo un halo máximo de inhibición de 20.23 milímetros a 18.630 mg/ 25µL sobre la cepa ATCC y una CMI a 0.30mg/25µL, la bacteria aislada no tuvo ninguna actividad. En la prueba de sensibilidad microbiana las cepas aisladas de *S. aureus* mostraron ser resistentes a Penicilina con un halo de inhibición de 0.00 mm y sensibilidad intermedia sobre Doxiciclina con 18.33 mm. Es así que se concluye que el extracto de “*Ccori kisa*” al 70 % presenta alta efectividad antioxidativa, buena actividad antimicrobiana sobre cepas ATCC y por último cero acciones sobre las aisladas y con resistencia total a “Penicilina” y “sensibilidad intermedia” a “Doxiciclina”. <sup>(40)</sup>

- **Durán Cascamayta, Renato. “Actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos y metanólico de *Sphagnum maguellanicum* (Musgo blanco)”. UNSAAC - 2018. <sup>(41)</sup>**

El fin de esta investigación fue determinar la “actividad antioxidante” de “musgo blanco” para lo cual se realizó la evaluación de la actividad antioxidante del musgo mediante dos métodos espectrofotométricos: neutralización del radical libre “2,2-difenil-1-picrilhidracil” (DPPH) y el radical

libre “ácido 2,2’azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico” (ABTS+). Estos fueron aplicados a los extractos etanólicos al 40 %, 70 %, 90 % y metanólico del musgo; donde se obtuvieron concentraciones máximas de 1 mg/ml; los cuales presentaron actividades antioxidantes altas de 38.26 %, 48.74 %, 23.40 % y 43.01 % para DPPH y 38.33 %, 51.98 %, 28.35% y 45.90 % para ABTS, obteniendo así un IC50 de 0.8967 y 0.8189 mg/ml para el extracto etanólico al 70 % para cada método, obteniendo alta actividad antioxidante a muy baja concentración, comparable a trolox. Se desarrollaron ensayos complementarios como la cuantificación de polifenoles con resultados 47.16 mg, 47.61 mg, 20.72 mg y 36.72mg de “equivalentes de ácido gálico” de extracto y de flavonoides de 36.41 ug, 37.38 ug, 18.20 ug y 30.00 ug de equivalentes de quercetina dihidratada/500ug de extracto. Entonces, se concluyó que el extracto etanólicos y metanólico “musgo blanco” tienen una gran acción anti oxidativa y concentraciones promisorias de polifenoles y flavonoides. <sup>(41)</sup>

- **Moina, V. “Actividad antibacteriana *in vitro* de colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen (Feuilleé ex molina)* A. Gray (Arrayán) y *Minthostachys spicata* (Benth). *Epling* (Yuraq Muña) frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175”. UNSAAC - 2015. <sup>(42)</sup>**

Este estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicrobiana “In Vitro” de enjuagues bucales preparados a partir del aceite de “Arrayán” y “Yuraq Muña” producto realizado por destilación por “arrastre de vapor” sobre cepas ATCC de *Streptococcus Mutans*. Una vez obtenido el aceite se vio su control microbiológico. Se realizó el efecto antibacteriano determinándose la CMI para los aceites esenciales por el método Kirby Bauer, dando como resultado un halo de 8.30mm para el “Arrayán” a una concentración mínima inhibitoria de 25mg/500µL y para “Yuraq Muña” un halo de 13.53mm a la misma concentración de 25mg/500µL, posteriormente se logró hallar CMB dado por “Dilución en medio líquido” reportando crecimiento nulo al 50 % en el caso del aceite de “Arrayán” y para “Yuraq Muña” al 12.50%. Seguidamente se hizo “Pre-formulación y formulación” de 3 enjuagues bucales “colutorios”; siendo el primer enjuague A aceite esencial de “Arrayán”, el enjuague B: aceite de

“Yuraq Muña” y el enjuague C: mezcla de ambos aceites, se realizaron pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas, dichos preparados fueron confrontados con enjuagues de uso comercial como “Colgate”, “Dento” y “Listerine”, conformando los grupos D, E y F respectivamente. Por último, se evaluó la actividad antibacteriana con el mismo método inicial dando como resultados lo siguiente: Enjuague A 11.57 mm, enjuague B 11.76 mm, enjuague C 10.94 mm, D 17.43 mm E 17.43 mm y F sin halos de inhibición formados. Concluyendo lo siguiente: “Muña” tiene mejor acción bacteriana que “Arrayán” y que el enjuague preparado con la mezcla de ambas especies vegetales presentan menor actividad antibacteriana, aun así, las tres formulaciones tuvieron mejor acción antibacteriana sobre Listerine y menor sobre Dento y Colgate. <sup>(42)</sup>

## 2.2 ESTADO DE LA CUESTION

En el Perú y el mundo se enfrenta situaciones de riesgo a la salud diariamente, de los cuales hoy en día dos se consideran de mayor interés por sus alarmantes cifras de incremento estadístico, tal es el caso del uso racional de antibióticos, y con ellos la resistencia microbiana, así como también el incremento de la formación de enfermedades degenerativas por la excesiva formación de radicales libres en el organismo, dado por el bajo consumo de antioxidantes naturales y el manejo inadecuado de las mismas. <sup>(43)</sup>

Antes de la existencia de antimicrobianos los índices por muerte ante infecciones de todo tipo eran elevados, con el tiempo fue mejorando gracias a su aparición de estas, lo malo es que en la actualidad se observa el incremento generado por la “resistencia” a la mayoría de los antibióticos por el uso inadecuado de los mismos, que han generado que un microorganismo desarrolle habilidades mutagénicas para resistir al ataque de un antibiótico, por lo que, se duda que en el futuro se pueda seguir disfrutando de los efectos observados hasta este momento, y como resultado final se cae en la posibilidad de tener una recaída a los siglos pasado, donde la infección sobrepasaba los límites permitidos para salvar a un paciente. <sup>(44)</sup>

A través de los años diversos microorganismos como *S. aureus* han desarrollado mecanismo de defensa que las hacen más hábiles frente a un antibiótico, por lo que curar una infección con esta bacteria se ha vuelto más difícil en los centros

de salud, esto puede deberse al estancamiento en la creación de nuevos antibióticos a partir de sustancias naturales, ya que hoy en día solo se ven modificaciones en estructuras de los antibióticos que ya conocemos, por lo que cambiar este problema día a día se hace menos prometedor. <sup>(45)</sup>

La Organización mundial de salud para el 2012 reportó a través de un informe el cual considero a 114 países, que los antibióticos que podrían estar generando resistencia, serían los siguientes: Los “carbapenémicos” usados para “*Klebsiella pneumoniae*”, principal generador de infección intrahospitalaria, neumonía, sepsis en RN e infecciones en UCI, “fluoroquinolonas” usadas para infección del tracto urinario generados por “*E. coli*”. ; También informaron sobre el descenso de “cefalosporinas” de 3º generación en ciertos países por su poca o nula efectividad contra gonorrea, reportó también que la probabilidad de muerte por *Staphylococcus aureus* con resistencia a “meticilina” es de 64 % y el riesgo costo-beneficio por la mayor tiempo de hospitalización de los pacientes se ve reflejado por día. <sup>(46)</sup>

En Latinoamérica el país con mayor índice de autoconsumo de antibióticos es Argentina con un 46%, seguidas de “antigripales” en un 45%, un 33% relajante muscular y 31 % antialérgicos, datos obtenidos el 2017 por las investigaciones de la “Confederación Farmacéutica Argentina” COFA. <sup>(46,47)</sup>

En el Perú, el informe de vigilancia del 2012 sobre el uso racional de antibióticos en microorganismos intrahospitalarios indicó un 99 % de resistencia a “penicilinas”, 80 % a “Eritromicina”, 75% a “clindamicina” y más de un 30 % de resistencia de “*P. aeruginosa*” en todos los grupos de antibióticos. En el aislamiento de “*Klebsiella pneumoniae*”, es triste ver que este cercano al 50% para cefalosporinas de tercera y cuarta generación. Lo más preocupante es para la bacteria más comúnmente aislada en un hospital pues es resistente a “ampicilina” con un 80 % y un 60% para ciprofloxacino, con esta nos referimos a “*Escherichia coli*”, y 1 % de resistencia a carbapenemes para “*Klebsiella pneumoniae*” y “*Enterobacter spp*”. Los resultados mostrados anteriormente hablan específicamente del 2012. <sup>(48,49)</sup>

Vayamos a nuestra ciudad Cusco donde según el Director Regional de Salud Dr. Ludgardo Astorga Febres entre el 30 al 50% del uso de antibióticos a nivel hospitalario es innecesario e inapropiado, el indica que dicho uso conlleva a la

selección de bacterias multiresistentes, las cuales se asocian a mayores días de hospitalización, mortalidad y costos que sobrepasan lo indicado por la OMS. <sup>(50)</sup> Es por ello que, se ha realizado en estos últimos años investigaciones que permitan demostrar el incremento sobre la sensibilidad antibiótica dado con mayor magnitud para los casos intrahospitalarios, tal es el caso del reciente estudio presentado en el Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco ESSALUD-Cusco, 2017, donde se logró demostrar que la resistencia de infección del tracto urinario es de 13.6%, siendo los pacientes más afectados aquellos que están entre los 56 - 70 años mostrando 41.3 %, prevaleciendo las mujeres con un 71.3 %. Por otro lado, en un estudio sobre “Sensibilidad antibiótica de los gérmenes causantes de infecciones urinarias en pacientes mayores de 15 años del Hospital Regional del Cusco, en el periodo 2005-2007”, se obtuvo como resultado a E. coli representando un 92%, 96% y 90% del total de gérmenes aislados en los años de estudio respectivamente. Además, se determinó que el antibiótico al que presentaba menor resistencia la E. coli fue la amikacina 3.2%, seguido de ceftriaxona y aztreonam. Los antibióticos con más alta resistencia (mayor del 20%) fueron ácido nalidixico, ampicilina/sulbactan, ciprofloxacino. <sup>(50)</sup>

En este trabajo se pretende mostrar estas cifras como resultados a investigaciones pasadas no con el fin de alarmar, sino con el objetivo de buscar implementar medidas que ayuden a parar con estos hechos es por ello que no solo se tomará en cuenta el uso inadecuado de antimicrobianos, sino también un tema que ha generado debate y estudio en los últimos años, “los antioxidantes y sus efectos en la salud”. Existen diversos reportes a nivel mundial sobre la evaluación, identificación y cuantificación en diversos vegetales y frutas, con la finalidad de erradicar la proliferación de radicales libres. <sup>(51)</sup> Es así que se ha visto que, en el trayecto de estos últimos años que los antioxidativos pasaron de “simples atrapadores de radicales libres” en los noventa a “moléculas cuyo consumo sería sinónimo de salud”. <sup>(52)</sup>

Los 90, década en la que los antioxidantes empezaron a llamar la atención, a través de investigaciones que indicaban que “los radicales libres” eran los responsables de la formación de diversas enfermedades como “cáncer, arterioesclerosis, etc.” Fue allí que se empezó a dar más importancia a la existencia de estos antioxidantes y se empezó a realizar más exámenes

laboratoriales que confirme la teoría de esas épocas. <sup>(53)</sup> Hoy en día con los resultados obtenidos por años se confirma que más de cien males se relacionan con la producción excesiva de “radicales libres” en el cuerpo, entre ellas tenemos: “aterosclerosis, Alzheimer, diabetes mellitus, cataratas, cáncer, enfermedades degenerativas del sistema nervioso central, artritis reumatoide y envejecimiento”. <sup>(54)</sup> La gran importancia que tiene la búsqueda constante de antioxidantes naturales, es debido a estas enfermedades, pues día a día se vuelven más difíciles de tratar. Es así que a cómo pasan los años son más los procesos patológicos implicados, por lo que el índice de los descubrimientos llevados a cabo por diferentes grupos de investigación, muestran patología más significativos que requieren mayor cuidado, entre estas tenemos: “el envejecimiento, la aterosclerosis, cáncer, catarata senil, insuficiencia renal aguda (IRA), crónica (IRC) y diálisis, Hipertensión arterial (HTA), Diabetes mellitus, Cirrosis, hepatopatía alcohólica e insuficiencia hepática, cuyos porcentajes de incidencia cada día son mayores”. <sup>(55)</sup>

## **2.3 BASES TEORICO CIENTÍFICAS**

### **2.3.1 BACTERIAS EN ESTUDIO:**

#### **2.3.1.1 *Escherichia coli* ATCC 25922**

##### **2.3.1.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

<b>Dominio</b>	: “Bacteria”
<b>Filo</b>	: “Proteobacteria”
<b>Clase</b>	: Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	: Enterobacteriales
<b>Familia</b>	: “Enterobacteriaceae”
<b>Género</b>	: “Escherichia”
<b>Especie</b>	: <i>Echerichia coli</i>

**Fuente:** UVIDIA O. 2012 <sup>(56)</sup>

### **2.3.1.1.2 GENERALIDADES**

Es bacilo corto gramnegativo, anaerobia facultativa, por su presencia de flagelo tiene movilidad, los inóculos se muestran redondos, convexos, lisos y con bordes definidos, suelen crecer mejor a 45 °C, no forman esporas. <sup>(56)</sup>

### **2.3.1.1.3 PATOGENICIDAD**

Esta bacteria habita en el intestino grueso y logra movilizarse desde los intestinos hasta las vías urinarias y con ello alcanzar al riñón por vía linfática generando con alto índice y persistencia infecciones urinarias. <sup>(57)</sup>

La transmisión por esta bacteria es por vía fecal-oral, logrando así generar infecciones gastrointestinales, como del tracto urinario, es frecuente en pacientes con heridas postoperatorias, puede provocar meningitis neonatal y en el peor de los casos septicemias, es común por generar diarreas, en bebés, niños y adultos, esto dependiendo al tipo de *E. coli* que el paciente tenga, es así que se ha logrado identificar 6 clases de *Escherichia coli* que provocan diarreas en el humano y son consideradas como patógenas entéricas las cuales son “*Escherichia coli* enterotoxigénica, enterohemorrágica, enteroinvasiva, adherente difusa, enteroagregativa y enteropatógena; cada una de ellas codificadas en el cromosoma y en el plásmido mediante diferentes serogrupos y serotipos que actúan directamente en la patogenia.” <sup>(58)</sup>

### **2.3.1.1.4 IDENTIFICACIÓN**

Se ha determinado que el método tradicional para la identificación es por aislamiento, esta se da tomando directamente la muestra de heces con hisopo, luego sembramos con un asa redonda de nicromel por estría cruzada con agar específico e incubamos a 37°C en un tiempo aproximado de 18 a 24 horas, seguidamente apartamos de entre 5 – 10 espacios colonizados de “*Escherichia coli*” e identificamos bioquímicamente con medios en tubo que contengan “hierro triple azúcar, agar lisina hierro, MIO, citrato, sorbitol, urea, rojo de metilo, Voges Proskauer, malonato o caldo manitol-rojo de fenol”, seguidamente se coloca en “agar base sangre (BAB)” y se hace la serología. <sup>(59)</sup>

### 2.3.1.1.5 TRATAMIENTOS

- INFECCIÓN URINARIA: “cistitis o bacteremia asintomática” se usa cotrimoxazol, nitrofurantoína, ácido nalidíxico, etc.
- DIARREA: Hidratación constante para recuperación de electrolitos. “diarrea infantil” se usan ATM como “aminoglicósidos, tetraciclinas, sulfamidas, ampicilinas, cefalosporinas, colistinas y gentamicina”. <sup>(60)</sup>

### 2.3.1.2 *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853

#### 2.3.1.2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

<b>“Reino</b>	: Bacteria
<b>Filo</b>	: Proteobacteria
<b>Clase</b>	: Gammaproteobacteria
<b>Orden</b>	: Pseudomonadales
<b>Familia</b>	: Pseudomonadaceae
<b>Género</b>	: Pseudomonas
<b>Especie</b>	: <i>Aeruginosa</i> ”

**Fuente:** UVIDIA O. 2012 <sup>(56)</sup>

#### 2.3.1.2.2 GENERALIDADES

Es considerado el patógeno principal de su familia, se encuentra clasificado como bacilo gramnegativo aerobio, fabrica ácidos a partir de sacarosa, glucosa o incluso fructuosa, por lo que puede vivir en lugares que su versatilidad nutritiva le permita, una característica principal en sus colonias es la presencia de pigmentos dándole una característica única en las placas a simple vista con brillo metálico, además presentan una consistencia parecida a gelatina, a simple vista se notan viscosos especialmente en zonas de mayor crecimiento. Atacan las vías respiratorias, más aún en pacientes con fibrosis quística, lo que las hace persistentes en pacientes inmunosuprimidos, provocando daños irreparables. *P. Aeruginosa* tiene demasiada facilidad para crecer en la naturaleza como a nivel nosocomial volviéndolas una fuente primaria de infecciones hospitalarias graves. <sup>(61)</sup>

### 2.3.1.2.3 PATOGENICIDAD

Suele ocupar gran parte del ambiente, especialmente hospitales, se puede ingerir a través del agua, son muy invasoras y productoras de toxinas, lo que les permite presentar resistencia a los antimicrobianos. Los pacientes inmunosuprimidos son su principal hospedador, puede atacar bebés prematuros o bebés con lactancia, paciente con quemaduras, pacientes con intervención quirúrgica generando en estas últimas infecciones de heridas, puede provocar sepsis, infección en las meníngeas, infección en el tracto urinario, neumonías, conjuntivitis e incluso infecciones en el oído. <sup>(56)</sup>

### 2.3.1.2.4 IDENTIFICACIÓN

Las *Pseudomonas* pueden ser identificadas al cultivar la cepa aislado del lugar infectado, seguido con pruebas de sensibilidad. <sup>(62)</sup>

### 2.3.1.2.5 TRATAMIENTO

- **INFECCIÓN LOCALIZADA:** En caso de FOLICULITIS sin uso de antibióticos, “OTITIS EXTERNA” lavados con “ácido acético 1%” o de manera tópica con “polimixina B”, infección severa se usa quinolonas, “INFECCIÓN LOCAL DE PARTES BLANDAS” administración de antibióticos, drenaje de abscesos, procedimiento quirúrgico, “ULCERACIÓN EN LAS CÓRNEAS”, se trata con ciprofloxacino 0.3 % o levofloxacino 0.5 %, en INFECCIÓN URINARIA SIN SÍNTOMAS no se usa antimicrobianos, caso este embarazada. INFECCIÓN URINARIA CON SÍNTOMAS levofloxacino vía oral 750mg/día, o ciprofloxacino 500mg c/12hrs. <sup>(62)</sup>
- **INFECCIÓN SISTÉMICA:** En este caso se necesita terapia parenteral, evaluando según gravedad y paciente ya sea dado por un solo fármaco beta-lactámico o una fluoroquinolona, o una combinación, o cualquier antipseudomona posible. <sup>(62)</sup>

## 2.3.2 HONGOS EN ESTUDIO:

### 2.3.2.1 *Cándida albicans* ATCC 90028

#### 2.3.2.1.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

<b>“Reino</b>	: Fungi
<b>Clase</b>	: Saccharomycotina
<b>Orden</b>	: Saccharomycetales
<b>Familia</b>	: Pseudomonadaceae
<b>Género</b>	: Cándida
<b>Especie</b>	: C. albicans”

**Fuente:** BONILLA P. (2011) <sup>(57)</sup>

#### 2.3.2.1.2 GENERALIDADES

Hongo “dimórfo” cuya característica principal es formar cadenas largas con “pseudohifas”, “hifa” y “blastoconidio”. Son capaces de asimilar y fermentar azúcar. Forman parte de la flora normal del humano, son hongos oportunistas y luego patógenos. <sup>(57)</sup>

#### 2.3.2.1.3 PATOGENICIDAD

Cándida albicans es un hongo dimorfo, le gusta vivir en zonas húmedas, como mucosa oral y vaginal, provocando infecciones en esos sitios, además pueden provocar problemas infecciosos en “piel”, “uñas” y “mucosas”, siendo los pacientes inmunosuprimidos ó con enfermedades latentes los más vulnerables, como son gestantes, bebés, niños o ancianos, personas con prótesis dental e incluso diabéticos. *Cándida albicans* es considerada como la especie más patógena por su constante mecanismo a resistencia frente al tratamiento antifúngico, generar daño celular y daños en tejidos invadidos. <sup>(56)</sup>

#### **2.3.2.1.4 IDENTIFICACIÓN**

Existen distintas formas de identificación para *Cándida Albicans* una de ellas es por fermentación en suero a 37°C o a través de cultivos con agares específicos, que pueden ser Sabouraud, incluso medios de cultivos con agar, sacarosa, dextrosa, maltosa o peptona, formando así después de 1 día o día y medio colonias blancas muy pequeñas llegando a medir entre 1.5 – 2 mm después de 5 a 7 días, caracterizadas con un olor a levadura, con relieve cremoso, estas colonias se desarrollan “in vitro” con presencia de oxígeno, con pH que va desde 2.5 a 7.5 y con una habilidad de estas levaduras por desarrollarse a 37°C, siendo este un factor de reconocimiento ya que los más contagiosas se desarrollan entre 25°C y 37°C, mientras que las menos contagiosas estancan su crecimiento a 37°C. <sup>(62)</sup>

#### **2.3.2.1.5 TRATAMIENTO**

Existe gran variedad de medicamentos con propiedad fúngica, pero las de alta demanda son los “azoles” cuyas vías de administración son tópicamente o con tabletas de forma oral, entre estas tenemos: “clotrimazol, fluconazol, itraconazol y ketoconazol.” <sup>(63)</sup> Se debe considerar la terapia en función al tipo de candidiasis y entre estas las siguientes:

- Candidiasis cutáneas: Tratamientos con fluconazol o itraconazol
- Vulvovaginitis: Crema u óvulos locales de nistatina, en caso de mujeres de mayor edad o en infecciones recurrentes por la complejidad se administra una dosis única de fluconazol.
- Infección orofaríngea: Tratamiento con enjuagues de clotrimazol o nistatina, en caso de pacientes con severidad mayor como exposición a quimioterapias se usa fluconazol.
- Candiduria e infección urinaria: Se administra tratamiento de antibióticos y antimicóticos en base a un cultivo previo. <sup>(63)</sup>
- Candidiasis sistémica: Dentro de estas tenemos a la candidiosis crónica diseminada, candidiosis ósea, articular, en SN, endoftalmitis, endocarditis, pericarditis, etc. Para este caso se da tratamiento de

acuerdo a las condiciones del paciente, para ello se toma como tratamiento de elección con mayor frecuencia al fluconazol 400 mg (6mg/kg/día), anfotericina B liposomal 3-5 mg/kg/día o anfotericina B desicolato 0.5-0.7 mg/kg/día. Y en caso de considerar un tratamiento alternativo en pacientes que rechacen la de primera elección Anidulafungina 200 mg dosis de carga y 100 mg/día, dependiendo el tipo de candidiasis que presente. <sup>(64)</sup>

### **2.3.2.2 *Trichopyton rubrum* ATCC 28188**

#### **2.3.2.2.1 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

<b>Phylum</b>	: Ascomycota
<b>Clase</b>	: Eueascomycetes
<b>Orden</b>	: Onygenales
<b>Familia</b>	: Arthrodermataceae
<b>Género</b>	: Trichopytom
<b>Especie</b>	: T. rubrum

**Fuente:** Velázquez, J.C. (2019) <sup>(39)</sup>

#### **2.3.2.2.2 GENERALIDADES**

El *Trychophyton rubrum* clasificada por ser un “dermatofito antropofílico” caracterizado por generar infección en piel, cuero cabelludo y uñas en pacientes sanos e infecciones más crónicas y agresivas en los pacientes inmunocomprometidos. <sup>(65)</sup>

Este hongo puede ser identificado por su particularidad nutricional, su característica fisiológica o por su morfológica. A simple vista se logran ver colonias algodonadas de color blanco y verde, con grosor y relieve, de reversa de logra ver un color naranja – rojo vino, por el microscopio se logra ver filamentos con microconidios piriformes en forma de lágrimas o pera alternadas entre sus hifas. Los medios más usados para su identificación macroscópica son el Agar Sabouraud, miococel. <sup>(66)</sup> Dentro de su familia se conoce al *T.*

*Mentagrophytes*, como otro hongo causante de micosis superficial, pues presenta características macroscópicas semejantes a las que se observan en *T. rubrum*, por lo que ambos tienen pruebas de identificación distintas para poder determinarlas correctamente. El caso de *T. rubrum* ha tomado demasiada importancia los últimos años pues su incidencia en dermatofitosis ha aumentado, siendo considerada hoy en día el agente causal hasta en un 80% de los casos. <sup>(67)</sup>

#### **2.3.2.2.3 PATOGENICIDAD**

Es la principal y única causa de dermatofitosis. Básicamente no es considerada como una infección mortal, pero tienen la capacidad de segregar y producir enzimas proteolíticas que han demostrado ser más virulentas y por ende persistentes. Entra en la piel a través de la degradación de la queratina (proteína) de la piel, invade a través del estrato córneo (capa externa de la piel), generando la dermatofitosis en forma de tiña corporis, tiña inguinal, tiña pedis, cruris, etc. Siendo demasiados incómodos y dolorosos. <sup>(39)</sup>

#### **2.3.2.2.4 IDENTIFICACIÓN**

La identificación de este hongo se puede realizar de varias maneras, tomando en cuenta el tipo de dermatofitosis, para ello consideramos 5 formas descritas a continuación:

- Preparación microscópica directa
- Cultivo
- Histología <sup>(68)</sup>

#### **2.3.2.2.5 TRATAMIENTO**

*Trichopyton rubrum* es uno de los hongos con mayor incidencia en la familia de los dermatofitos, considerando de manera notoria un 71% frente a un 20% para *T. Mentagrophytes* y el restante para *cándida albicans*, Las enfermedades superficiales de la piel generadas por este hongo tienen un tratamiento largo y persistente y por lo general se los antimicóticos como Terbinafina e itraconazol son considerados como primera línea de tratamiento con periodos cortos de 3

meses más o menos, de manera más detallada podemos ver los siguientes tratamientos:

- Tinea pedis: TÓPICA (butenorfina, diario), ORAL (fluconazol 150 mg/semanal de 1-4 semanas).
- Tinea mannum: TÓPICA (ciclopirox, 2 veces al día), ORAL (ketoconazol 200 mg/día, 4 semanas).
- Tinea cruris: TÓPICA (clotrimazol, 2 veces al día), ORAL (itraconazol 200-400 mg/día una semana).
- Tinea corporis: TÓPICA (econazol, Terbinafina, diario 2 veces al día)
- Tinea capitis: TÓPICA: champú+terapia oral, ORAL (Terbinafina 250 mg/día por 4-8 semanas). <sup>(69)</sup>

### **2.3.3 PRUEBA DE SENSIBILIDAD MICROBIANA**

La acción antibacteriana y antifúngica se evalúa “in vitro” con el fin de verificar la susceptibilidad del microorganismo en el hospedador y con ello conocer el tratamiento correcto para los pacientes y la adecuada utilización de antibióticos, a esto se le llama “antibiograma”. Las pruebas de sensibilidad más comunes son:

#### **2.3.3.1 MÉTODO POR DILUCIÓN**

Este método nos permite ver las concentraciones exactas a la cual una bacteria u hongo presenta una inhibición, con el fin de determinar su acción bactericida y bacteriostática, para ello se agrega los microorganismos en su respectivo medio ya sea líquido o sólido, con ellos se logra obtener colonias activas que son inoculadas nuevamente con los medios específicos y se incuban. Luego se realizan diluciones y en ellas se agregan pequeñas colonias activas, se lleva a incubación y el resultado se da como la mínima cantidad de antibiótico necesario para “inhibir” o “matar” a la cepa estudiada. La desventaja se da precisamente por el tiempo empleado, por lo que su uso es más limitado a circunstancias especiales, pero fuera de ello la principal ventaja de esta prueba es que brinda concentraciones correctas y exactas del medicamento que garantizaría la inhibición o muerte de la bacteria u hongo a tratar. <sup>(70,71)</sup>

### **2.3.3.2 MÉTODO DE DIFUSIÓN**

Este método, fué normalizado por “Kirby Bauer” en el 66´ en EEUU, es conocida por ser la prueba más usada en microbiología pues garantiza datos precisos de inhibición. La OMS publicó las “Normas” a considerar en el procedimiento, los cuales son”: Las cepas ATCC deben ser obtenidas en forma de “cultivo puro”, debe ser “agente etiológico”, los discos son específicos con diámetro entre 5 a 7 milímetros y grosor de 0.02 milímetros, una carga máxima de 10 uL, lo cual permita halos de inhibición no mayor a 40 mm, deben almacenarse a 4°C o según indiquen los fabricantes, se debe considerar un ambiente con sustancias desecadoras, las placas deben ser uniformes y completas para un buen sembrado con altura del agar de 4 mm para estandarizar la difusión de la droga, caso omiso a este paso generaría error de lectura y formación de halos de inhibición.<sup>(67,71)</sup>

### **2.3.4 PLANTAS MEDICINALES**

#### **2.3.4.1 *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña)**

##### **2.3.4.1.1 GENERALIDADES**

Su nombre es dado según el país de procedencia pues en “quechua” la llaman “muña”, y en “Aymara” lo conocen como “Coa” y “Huaycha”, en otras regiones se le conoce a esta planta como: "muña negra", "polco silvestre", "coz", "muña-muña", "arash muña", "kon" "orcco- muña".<sup>(72,73,74)</sup> Su crecimiento es favorecido a una altura entre 2500 a 3500 msnm.<sup>(75)</sup> Se considera hemicriptófila pues brota con las primeras lluvias de la primavera y desaparece en invierno,<sup>(76)</sup> alcanzando una altura de 0.80 - 1.50 m, crece en lugares con bastante humedad, en pH entre 5-8 con bastante luminosidad, se ven frecuentemente en acequias, manantiales suelos arenosos húmedos,<sup>(77)</sup> se multiplica por semilla y por codo.<sup>(78)</sup>

**FIGURA N°1: *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)**



**FUENTE:** Olivera L. y Gutierrez G. Urubamba-2020

#### **2.3.4.1.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

La clasificación e identificación botánica fue realizada por el “M.Cs. Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera, profesor investigador asociado al Herbario Vargas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco”, de acuerdo a la Clasificación APG IV – 2016 (Angiosperm Phylogenetic Group).

<b>Reino</b>	<b>: Plantae</b>
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	: Magnoliidae
<b>Superorden</b>	: Asteranae
<b>Orden</b>	: Asterales
<b>Familia</b>	: Lamiaceae
<b>Género</b>	: <i>Minthostachys</i>
<b>Especie</b>	: <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña)
<b>Sinonimias</b>	: <i>Bystropogon glabrescens</i> Benth., <i>Bystropogon spicatus</i> Benth
<b>Nombres comunes:</b>	“Rap'i muña”, “Q'eshua muña”, “Papa muña”

**FUENTE:** Herbario Vargas CUZ (ANEXO 1)

#### **2.3.4.1.3 TIPOS DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)**

La distribución de esta especie es amplia yendo desde “Argentina a Venezuela”

encontrándose aproximadamente doce clases distintas, de los cuales se consideran seis en Perú que van desde “Cajamarca” hasta “Cusco”, los cuales son “*Minthostachys glabrenscas*”, “*Minthostachys salicifolia*”, “*Minthostachys setosa*”, “*Minthostachys tomentosa*” y “*Minthostachys mollis (HBK) griseb*”. (79,80)

#### **2.3.4.1.4 COMPOSICIÓN QUÍMICA EN *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA)**

Bibliográficamente no se tiene muchas referencias que indiquen la composición química de esta especie en particular, pero por los resultados encontrados en investigaciones pasadas en nuestra universidad se logró observar que en el aceite esencial de *Minthostachys spicata* se ha identificado un total de cincuenta y ocho componentes, considerando de manera general a los monoterpenos oxigenados con un 87,4%, siendo sus principales constituyentes la pulegona (43,2 %), isomentona (15,0 %), y mentona (14,2 %). (81) Los porcentajes obtenidos pueden ser variables, pues se ha visto otras investigaciones donde se encontró pulegona (30,06 %) y 2s-tras mentona (29,65 %) (42) pero esto solo confirma que estos dos monoterpenos oxigenados son los componentes mayoritarios de esta especie, con porcentajes variados que podrían deberse a la zona de recolección de los mismos.

#### **2.3.4.1.5 COMPOSICIÓN NUTRITIVA DE *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA)**

Según **Azaña, 2010** (86). “Por cada 100 gr la especie tiene como **Componentes mayoritarios**: 16% de agua, 3.2% de proteínas, 2.80% grasas, 66.30% carbohidratos, 9.4% de fibra, 11.70% de cenizas. **Minerales**: 2.24% de calcio, 22.40% de hierro. **Vitaminas**: 306 µg % de retinol, 0.35 µg % de tiamina, 1.81 µg de rivo flavina, 6.85 µg % de niacina y 21.10 µg % de ácido ascórbico”. (82)

#### **2.3.4.1.6 ACEITES ESENCIALES**

Los aceites esenciales o aceites volátiles, son mezclas complejas de sustancias con propiedades aromáticas, que pueden ser extraídos por destilación; logrando ser acuosos y a veces sólidas. (83,84) Los aceites llevan utilizándose desde hace varios años, todos los vegetales aromáticos contienen

esencias, y los aceites esenciales son el extracto puro de estas esencias. <sup>(85)</sup> Augusto los define como: “Aquellas sustancias caracterizadas por su volatilidad, formadas por agrupaciones de un gran número de compuestos químicos aromáticos”. <sup>(86)</sup> Se encuentran distribuidas en diferente parte de la especie y son solubles en agua. Morales indica que: “La mayoría de las esencias están constituidas por un compuesto predominante; pero que no siempre las características de olor y sabor están dadas por el compuesto principal”. <sup>(85,86)</sup>

#### **2.3.4.1.6.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA**

Entre los compuestos más relevantes tenemos: “**Hidrocarburos:** Mirceno, cinemo, pineno, canfeno, felandreno, bineno, limoneno, cariofileno, geranioleno, santaleno. **Alcoholes:** isoamilico, geraniol, linalol, citronelol, nerodinol, farsenol, terpinol, mentol, borneol, bencílico, fenil-etílico. **Fenoles:** Timol, carbacrol, eugenol, vainillina. **Aldehídos:** Citral, citronelal, anisaldehído, benzaldehído, cinamadehído. **Cetonas:** Alcanfor, carvona, mentona, piperitona, acetato fenona. **Éteres:** Anetol, metilchavicol, eucaliptol, ascarodol. **Ésteres:** Salicilato de amilo, benzoato de metilo, acetato de terpinilo, acetato de geranilo”. <sup>(87,88)</sup>

#### **2.3.4.1.6.2 EXTRACCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL POR “DESTILACIÓN POR ARRASTRE DE VAPOR”**

La maniobra propuesta es la más usada a nivel mundial, por ser económica y simple, además de ser rentable por las cantidades de materia prima que se pueden usar por proceso, obteniendo altos resultados. En esta técnica se aprovecha la característica principal que tienen los aceites esenciales “su volatilidad” con el fin de ser arrastrados con el vapor del agua y condensados por un refrigerante, que por densidades las volverán a separar entre agua y aceite. El objetivo principal de esta maniobra es la separación de los componentes de característica volátil que presentan de los que no son, para lo cual el armado de este equipo se da por la presencia de dos balones uno con agua que entrará en contacto con calor hasta ebullición y el otro tendrá la especie a tratar, luego la mezcla agua/aceite por condensación en el refrigerante se separaran. <sup>(89)</sup>

Para lo cual se dará el siguiente proceso: elección de planta en buen estado, pesar la materia prima y colocarlo en el segundo balón, en el primer balón irá el agua que entrará a ebullición, se receptiona el aceite que salga del refrigerante en un recipiente estéril y cerrado (para evitar pérdida), esterilizar; almacenar a T° ambiental y sin luz hasta su uso. <sup>(89)</sup>

### **2.3.4.2 *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)**

#### **2.3.4.2.1 GENERALIDADES**

Asterácea conocida por su maleza resistente, diente de león denominado así por el color de sus hojas verde oscuro bien dentadas, pinnatipartidas o pinnatisectas, dispuestas en rosetas, pueden crecer de 15 a 30 cm de altura, se caracteriza por contener dentro de su composición lactonas sesquiterpénicas que son sustancias amargas responsables del sabor principal de este vegetal, dentro de estas tenemos a las taraxacina, taraxacerina o lactucopicrina. Se ha logrado determinar que estos compuestos también son los responsables de atribuir en la especie propiedades antiinflamatorias, hepatoprotectoras y son efectivas para dolencias digestivas. Otro de sus componentes ya característicos son los compuestos fenólicos que presentan efecto modulador sobre la inflamación, además de ser los principales componentes que otorgarían a esta planta actividad antioxidante y antibacteriana. <sup>(90)</sup>

Esta planta ha sido una de las especies con mayor expansión a nivel mundial, indican referencias sobre su procedencia europea, pero hoy en día está dispersa en todo el mundo. Es una de las especies más estudiadas por sus propiedades curativas. <sup>(91)</sup>

**FIGURA N°2: *Taraxacum officinale* (Diente de león)**



**FUENTE:** Olivera L. y Gutierrez G. Urubamba, 2020

#### **2.3.4.2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA**

La clasificación e identificación botánica fue realizada por el biólogo “M.Cs. Blgo. Alfredo Tupayachi Herrera, profesor investigador asociado al Herbario Vargas de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco”, de acuerdo a la Clasificación APG IV – 2016 (Angiosperm Phylogenetic Group).

<b>Reino</b>	: Plantae
<b>Clase</b>	: Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	: Magnoliidae
<b>Superorden</b>	: Asteranae
<b>Orden</b>	: Asterales
<b>Familia</b>	: <u>Asteraceae</u>
<b>Género</b>	: <u><i>Taraxacum</i></u>
<b>Especie</b>	: <i>Taraxacum officinale</i> F. H. Wigg

**FUENTE:** Herbario Vargas CUZ (ANEXO 1)

#### **2.3.4.2.3 COMPOSICIÓN QUÍMICA**

Como vimos anteriormente los principios amargos dados por las lactonas sesquiterpénicas son responsables de acción en el hígado y el aparato digestivo, dicho compuesto se logró encontrar en las hojas y la raíz (taraxina) y con ello se ha visto también que son fuente rica de vitaminas y de minerales. <sup>(91)</sup>

#### 2.3.4.2.4 COMPOSICIÓN NUTRITIVA

“Por cada 100 gramos de hojas: 2.7 gr de proteínas, 85.6 gr de agua, 0.7gr de grasa, 9.20 gr de carbohidratos, 3.5 gr fibras, 0.71 gr azúcar presente, **Minerales:** 187 mg calcio, 36 mg de magnesio, 397 mg de potasio, 0.41 de zinc, 66 mg de fósforo, 3.10 mg de hierro, **Vitaminas:** 35 mg de vitamina C, 0,806mg de niacina, 27 mcg de ácido fólico, 0.190 mg de tiamina, 3.44 mg de vitamina E, 0.251 mg de vitamina B<sub>6</sub>, 508 mcg vitamina A, 778.4 mcg de vitamina K, **Lípidos:** 0.71 gr de grasas saturadas, 0.306 gr de grasas poliinsaturadas, 0.014 gr grasas monoinsaturadas”. <sup>(92)</sup>

#### 2.3.4.2.5 EXTRACCIÓN

Cuando se habla de extracción se viene a la mente un montón de procesos con el cual una especie vegetal puede descomponer sus principios activos, con la finalidad de poder analizarlos y ver sus acciones específicamente. Normalmente la extracción se usa con distintos solventes orgánicos, tomando una importancia a la polaridad de estos, según los objetivos del investigador. Se utiliza alcohol, acetato de etilo como sustancias de primera elección por su polaridad, además que al someterlos a calos son los menos reactivos, pero en ocasiones se usa éter de petróleo o hexano con el fin de desengrasar el material, pero es importante mencionar que el alcohol etílico es generalmente eficaz pues por su polaridad puede abarcar mayor cantidad de metabolitos ya sea liposolubles e hidrosolubles, existen incluso métodos de extracción mediante liofilización cuyo caso se realiza con agua como solvente. <sup>(93,94)</sup>

A continuación, se nombran las distintas formas de extracción existentes:

- **Maceración:** La materia prima cruda es triturado y va en contacto directo con un solvente, debidamente envasado, fuera de luz, y con agitación constante por 2-14 días, pasado el tiempo pasa por un filtrado, en donde la materia prima vuelve a ser llenada con solvente y el filtrado pasa por un rotavapor hasta sequedad.
- **Decocción:** La materia prima cruda se cuece junto con el solvente, frecuentemente agua. <sup>(95,96)</sup>

- **Digestión:** Es un proceso parecido a la maceración, pero a esta se le añade calor suave entre 50° o 60°C, esto se da en especies que son poco solubles en frío y requieren ser calentados sin ebullición, para no alterar la composición de la muestra, con ello conseguimos mejor rendimiento pues baja la viscosidad del solvente permitiéndole entrar más rápido a la célula de la materia y sea más fácil de extraer sus principios activos.
- **Infusión:** La droga vegetal es sometido a ebullición con el solvente sin contacto directo del calor, generalmente se usa agua.
- **Percolación o lixiviación:** En esta maceración la materia prima cruda se tritura y se añade un solvente en el percolador, macera y se va renovando el solvente de manera continua de tal manera que “se mantiene la gradiente de concentración”, por otro lado, la droga restante se vuelve a prensar y el líquido resultante se combina en el percolador y así se concentra el extracto. <sup>(95,96)</sup>

## 2.3.5 MEDICAMENTOS USADOS

### 2.3.5.1 TERBINAFINA

Es el antimicótico más utilizado para dermatofitosis, con carácter fungicida, puede ser administrado de manera tópica u oral con alimentos o sin ellos, es altamente liposoluble por lo que tiene mayor afinidad por los lípidos y la queratina, generando un efecto más ideal en los niveles plasmáticos, se concentra más por esta característica en pelo, uñas estrato corneo, y tienen una eliminación lenta por lo que pueden permanecer en el sistema por hasta 3 semanas después de suspender la terapia. El “mecanismo de acción” de este medicamento es sencillo, pues evita la formación de ergosterol inhibiendo la enzima escualeno peroxidasa, encima necesaria para la formación de lanosterol y con ello la formación de ergosterol, quien le brinda firmeza y estabilidad a la membrana de la bacteria, entonces como no hay formación de cadena precursora de ergosterol el hongo muere por no tener membrana. La presentación de este medicamento es de comprimido de 250 mg, y su posología va dependiendo a la tiña correspondiente, siendo el tratamiento más usual de dos semanas para tinia inguinal y cuatro semanas para tinia en pies y manos. Las reacciones adversas más representativas son cefaleas, trastornos

gastrointestinales, gustativos y cutáneos, somnolencia, está contraindicado para embarazadas y durante la lactancia. <sup>(97)</sup>

### **2.3.5.2 CIPROFLOXACINO**

Fármaco perteneciente a las quinolonas específicamente a las fluoquinolonas de segunda generación, es utilizada para infecciones por gramnegativos multirresistentes, y algunos Gram positivos, las reacciones adversas que pueden provocar son cefaleas, fotosensibilidad problemas gastrointestinales, incremento de transaminasa y creatinina, lo que puede generar exámenes de laboratorio equivocados. <sup>(98)</sup>

Tiene como principal función inhibir a la topoisomerasa IV y la DNA-girasa bacterianas, rompiendo las cadenas del cromosoma de la bacteria y generando un sobreenrollamiento de la cadena, impidiendo la replicación de su material genético, provocando la muerte de las mismas. <sup>(99)</sup> Este medicamento puede ser administrado por vía oral (llegando a concentraciones plasmáticas 1.6-2.9 mg/ml) e intravenosa (4.6mg/ml), esta última mantiene su CMI hasta por 12 horas. <sup>(98,99)</sup>

### **2.3.5.3 FLUCONAZOL**

El fluconazol es un biazol fluorado con actividad fungistática, caracterizado por ser el antifúngico más amigable por su biodisponibilidad y baja toxicidad, es el más usado por su mecanismo de acción, y por su buena absorción, su vía de administración puede ser oral o endovenosa siendo esta última de mejor absorción y recepción, lo interesante de este fármaco es que mantiene las mismas concentraciones en “órganos, tejido, plasma, saliva, líquido cefalorraquídeo y vagina” alcanzando vida de hasta 30 horas a una concentración máxima de 6µg/ml/100mg vía oral y de 2030µg/ml/400mg por vía endovenosa. El fluconazol se caracteriza por inhibir la formación de ergosterol en su cadena de producción inhibiendo específicamente la enzima alfa-14-esterol desmetilasa enzima necesaria para convertir al lanosterol en ergosterol. Lo que genera una inestabilidad y deja sin soporte a la membrana del hongo. <sup>(100)</sup>

#### **2.3.5.4 VITAMINA C**

La característica más peculiar es su extrema facilidad para donar electrones, convirtiéndola en antioxidantes, su estructura básica este compuesto por 6 carbonos, 8 hidrógenos y 6 oxígenos, que pasa a formar DHA (ácido dehidroascorbico)  $C_6H_6O_6$  que viene a ser su forma oxidada, esta reacción fácilmente reversible la convierte en una molécula ligera que es capaz de ser agente oxidante bajo. Se caracteriza por ser una célula citotóxica, atribuida de esa manera por la similitud que tiene con la glucosa. En el organismo son de ingesta necesaria por la ausencia de la “enzima oxidasa de l-gluonolactona”. <sup>(101)</sup>

#### **2.3.6 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

Los antioxidantes tienen una gran actividad biológica al ser ingeridos diariamente y pueden encontrarse en productos de uso y consumo diario como el tomate, el brócoli, las zanahorias, entre frutas las uvas, el mango, el aguacate, melón. <sup>(102)</sup> Se ha visto y demostrado en los últimos años que estos compuestos tienen la habilidad de prever y resistir daños generados en el organismo por las cadenas de la oxidación. <sup>(103)</sup>

##### **2.3.6.1 TIPOS DE ANTIOXIDANTES**

Como vimos inicialmente el comportamiento de los radicales libres genera daños a la célula tanto por fuera como por dentro, es por ello que existen diferentes grupos de antioxidantes cuya principal tarea en la célula es tanto extracelular como intracelular. Por lo que, es importante asegurarse el consumo de antioxidantes que sean solubles en agua (hidrofílicos) y solubles en grasas (hidrofóbicos), con el fin de para garantizar una mejor protección de la membrana celular. <sup>(104)</sup>

##### **2.3.6.1.1 ANTIOXIDANTES PRIMARIOS**

La función principal de los antioxidantes primarios es evitar la formación de nuevas especies reactivas del oxígeno (Eros), volviéndolas en moléculas menos perjudiciales, dentro de estas se encuentran: <sup>(41)</sup>

- **Glutaciona peroxidasa:** Definida también como glutación peroxidasa, se encuentra en la matriz mitocondrial y en el citosol, en caso de las células animal y se ha demostrado existencia de distintas formas que le confieren tamaños y ubicaciones específicas, dentro de estas tenemos a la “glutación peroxidasa fosfolípido hidroperóxido” cuyo fin es dar protección a la membrana y de las LDL, evitando una “peroxidación lipídica”
- **Coenzima superóxido:** Estos ajustan el ingreso de O<sub>2</sub> en la célula evitando así la oxidación de las mismas.
- **Catalasas:** Captan al radical libre para descomponerlos en H<sub>2</sub>O y O<sub>2</sub>.<sup>(105)</sup>

### 2.3.6.1.2 ANTIOXIDANTES SECUNDARIOS

En cuanto a este tipo de antioxidantes su función principal es capturar al radical libre. Como ejemplo tenemos: “vitamina E y C, β-caroteno y glutación urato, bilirrubina y ubiquinona”.<sup>(105)</sup>

### 2.3.6.2 RADICALES LIBRES

Los “radicales libres” son compuestos químicos que se caracterizan por tener un electrón desapareado, generando en ellos una inestabilidad y volviéndolas demasiado reactivas por lo que se unen a cadenas de lípido, carbohidratos, proteínas, etc., desestabilizando y haciendo cambios en la membrana y en las células. Como se mencionó anteriormente suelen ser demasiado reactivos, es por ello que duran muy poco pues buscan reaccionar con cualquier cadena que este próximo a su alcance, formando cadenas con dificultad de dosificación.<sup>(106)</sup>

Pueden generar daños patológicos como: “ateroesclerosis, cáncer, catarata senil, insuficiencia renal aguda y crónica, diabetes mellitus, hipertensión arterial, cirrosis, insuficiencia hepática y hepatopatía alcohólica distrofia muscular, artritis e inflamación, enfisema pulmonar e incluso el mismo proceso de envejecimiento”.<sup>(107)</sup>

Como sabemos nuestro organismo puede generar estos radicales libres a través de las especies reactivas de oxígeno, formando con ello superóxidos, pero estas pueden ser controladas por nuestro propio organismo usándolas como defensa

contra bacterias y virus; neutralizándolas fácilmente por nuestro propio sistema antioxidante, lo malo ocurre cuando la producción de estas se descontrola por los malos hábitos, por la dieta alta en calorías y comida rápida, por contaminación ambiental, exposición a rayos UV por consumos de drogas, bebidas alcohólicas en exceso, resistencia microbiana, etc. <sup>(108)</sup>

Dentro de estas hay dos tipos: El radical libre endógeno “cadena de transportes electrónicos mitocondriales, peroxisomales y microsomales, enzima citoplasmática y enzima fagocítica” y el radical libre exógeno, medios externos como “cigarrillo, alimentos, radiación”. <sup>(109)</sup>

### 2.3.6.3 ESTRÉS OXIDATIVO

Es descrito así al desequilibrio entre la producción de Eros “especies reactivas de oxígeno” y la capacidad de un sistema biológico de decodificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante, trayendo como consecuencia problemas estructurales en los órganos comprometidos, por un grave daño celular por alteración de sus cadenas membranosas. <sup>(110)</sup>

**TABLA N°1: Fuente común de radical libre y antioxidantes**

FUENTE COMÚN DE RADICALES LIBRES	FUENTE COMÚN DE ANTIOXIDANTE
- Cigarrillo	- Chocolate oscuro
- Ambiente contaminado	- Té y café
- Radiaciones	- Frutas y verduras
- Luz ultravioleta	- Nuez
- Exceso de alcohol y drogas	- Condimento, frijol

**FUENTE:** Montero Revisión. Anual de la Facultad de medicina (1996). <sup>(106)</sup>

### 2.3.6.4 MÉTODO DE EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

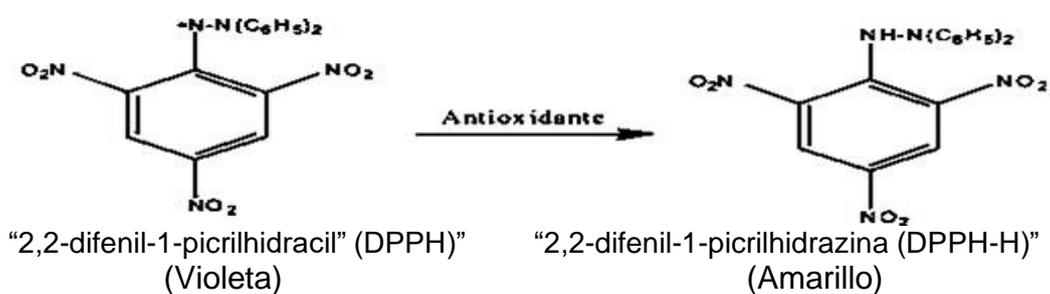
Hoy en día los estudios han permitido obtener formas para hallar el poder antioxidante, todas ellas relacionadas con el porcentaje de captación de radical libre, de los cuales tenemos los siguientes: <sup>(111)</sup>

- Método ABTS “ácido 2,2-azinobis (3-etilbensoazolin)-6-sulfónico”
- Método FRAP “reducción del hierro férrico a ferroso”
- Método DPPH “2,2-difenil-1-picrilhidrazil”

### 2.3.6.4.1 MÉTODO DEL DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL)

Simplicidad y alta sensibilidad son los términos que definen a este ensayo, motivo por el cual hace que sea popular para el estudio de antioxidantes (Brand-Williams et al., 1995). Su teoría es sencilla, pues solo refleja a que todo donador de hidrógeno es un antioxidante. Uno de los métodos más utilizados es espectrofotométricamente a una longitud de 517 nanómetros y con una viración de color de violeta a amarillo cuando se da la reducción del DPPH por captación de radicales libres. <sup>(112)</sup>

**FIGURA N°3: Captación del radical “2,2-difenil-1-picrilhidrazil” (DPPH)**



**FUENTE:** Brand-Williams W, M Cuvelier, Berset C. Uso de un método de radicales libres para evaluar la actividad antioxidante. (1995). <sup>(112)</sup>

La actividad antioxidante de una muestra se expresa en IC<sub>50</sub> (concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el (DPPH)).

## 2.4 MARCO CONCEPTUAL

- **Antibacteriano:** Sustancia capaz de eliminar bacterias o inhibir el desarrollo y contaminación de las mismas, sin generar daño en el hospedador u organismo portador. <sup>(113)</sup>
- **Antifúngico:** Término referido a las sustancias capaces de generar destrucción o inhibición de hongos a nivel celular, evitando mayor proliferación y daño en su hospedador. <sup>(114)</sup>
- **Bacterisida:** Sustancia de distinto origen cuya capacidad es generar lisis celular en las bacterias llevándolas a la muerte total. <sup>(115)</sup>
- **Bacteriostático:** Sustancia de distinto origen cuya capacidad es inhibir la reproducción dejándola sin descendencia ya más vulnerable a un antibiótico. <sup>(113)</sup>
- **In vitro:** Es un tipo de ensayo utilizado en laboratorio con el fin de mantener con vida a microorganismos para que pueden ser manipulados y observados, con fines de investigación. <sup>(116)</sup>
- **Agar:** Se usa en forma de gel en la preparación de medios de cultivo sólidos para microorganismos, como laxante, para la elaboración de emulsiones y como medio de soporte para la inmunodifusión y la inmunoelectroforesis. <sup>(117)</sup>
- **Antioxidante:** Compuestos endógeno y exógenos capaces de evitar oxidación molecular, con capacidad de inhibir y propagar la formación de “reacciones en cadena de los radicales libres”. <sup>(118)</sup>
- **Radicales libres:** Los radicales libres son sustancias inestables por la presencia de su electrón desapareado, generándole una gran afinidad por captar un protón libre <sup>(118)</sup>
- **DPPH:** 2,2-difenil-picril-hidracilo, este compuesto se decolora ante la reacción con un radical oxidante cambiando de color por lo cual es aprovechado en los análisis colorimétricos, es altamente estable. <sup>(119)</sup>

# CAPITULO III

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 MATERIALES

#### 3.1.1 MATERIAL BIOLÓGICO

##### 3.1.1.1 MUESTRA VEGETAL

- Partes aéreas (tallo, hoja) de *Taraxacum officinale* (Diente de León).
- Partes aéreas (hojas) de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña).

##### 3.1.1.2 MUESTRA MICROBIANA

- Cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli* (ANEXO 02)
- Cepas ATCC 27853 de *Pseudomonas aeruginosa*. (ANEXO 03)
- Cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans* (ANEXO 04)
- Cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum* (ANEXO 05)

#### 3.1.2 RECURSOS DE INFRAESTRUCTURA PARA EL ESTUDIO

- Laboratorio de “Tecnología Farmacéutica” de la Escuela Profesional de “Farmacia y Bioquímica”, Facultad de Ciencias de la Salud.

#### 3.1.3 MATERIAL Y EQUIPO DE LABORATORIO:

##### 3.1.3.1 MATERIALES DE CAMPO:

- Guantes de látex talla S
- Tijeras podadoras
- Bolsa de plástico
- Bolsas de papel y de polietileno
- Celular para la toma de fotos
- Cuaderno de campo

- Papel Kraft
- Lapiceros

### **3.1.3.2 MATERIALES DE LABORATORIO:**

- Embudo de vidrio
- Asa de siembra
- Malla
- Molino
- Bolsas de polietileno
- Cuchillos y tijeras de podar
- Tubos de ensayo
- Baguetas
- Gradilla
- Mortero
- Papel filtro
- Pipetas
- Pipetas de Pasteur
- Soporte universal
- Termómetro
- Vaso de precipitado
- Matraz
- Micropipetas
- Probetas
- Placas Petri
- Asas para inocular
- Pipeta Pasteur
- Hisopo
- Mechero Bunsen
- Erlenmeyer
- Algodón
- Papel aluminio
- Plástico film

### **3.1.3.3 INSTRUMENTOS DE LABORATORIO**

- Autoclave Modelo LS - BSOI - 1. Pres. Max. 0.22 Mpa, T° max. 134°C.
- Cocinilla eléctrica
- Baño María
- Estufa
- Rotavapor
- Refrigeradora Coldex hasta -20°C.
- Balanza Analítica con una capacidad de 210 g, resolución de 0,1 mg y sensibilidad de 1 mg.
- Incubadora MERD, con un rango de temperatura desde 5°C temperatura ambiente) hasta 60°C
- Autoclave
- Espectrofotómetro visible JASUGO V-630 BIO con un rango de medición de 325 nm a 1100 nm.
- Equipo destilador de agua
- Equipo destilador por arrastre de vapor
- Agitador magnético

### **3.1.3.4 SOLVENTES Y REACTIVOS:**

#### **3.1.3.4.1 SOLVENTES**

- Etanol 70%
- Etanol 96%
- DPPH CALBIOCHEM® (ANEXO 06)
- Hidróxido de sodio al 1%, 5% y 10% (Glucósidos).
- Limaduras de magnesio (Flavonoides).
- Etanol Q.P. (Merck).
- Rvo. de Bajlet (Cumarinas).

- Rvo. de Lieberman – Burchard (Esteroides).
- Rvo. de Dragendorff. (Alcaloides).
- Rvo. de Mayer. (Alcaloides).
- Rvo. de Wagner. (Alcaloides).
- Solución acuosa de Ninhidrina al 1% (Aminoácidos).
- Solución de gelatina – cloruro de sodio al 1% (Taninos).

### **3.1.3.5 MEDIOS DE CULTIVO**

- Agar Mac Conkey
- Agar Cetrimide
- Agar Sabouraud
- Mueller Hilton
- Caldo Brain Heart Infusion (BHI) MERCK®

### **3.1.3.6 FÁRMACO PATRÓN**

- Vitamina C (Ácido Ascórbico) MERCK® (ANEXO 07)
- Ciprofloxacino 4 µg MERCK®
- Terbinafina 30 µg
- Fluconazol 25 µg

## **3.2 DISEÑO:**

### **3.2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN:**

#### **- Codificación:**

G: Grupos estudiados

X: Tratamiento, estímulo o condición experimental

O: Medición u Observación

#### **A. TIPO DE ESTUDIO:**

**ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA:** Por su característica, es un estudio de tipo:

- Cuasiexperimental: Debido a que se manipuló deliberadamente una o más variables independientes (concentraciones del extracto y del aceite) para analizar las consecuencias que la manipulación tiene sobre una o más variables dependientes (actividad antimicrobiana y antifúngica).

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE:** Por su característica, es un estudio de tipo:

- Cuasiexperimental: La investigación manipuló una o varias variables independientes (concentraciones del extracto y del aceite) y se observó el efecto causado sobre la variable dependiente (actividad antioxidante).

### 3.2.1.1 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Para determinar la “actividad antioxidante” del patrón ácido ascórbico se siguió el siguiente diseño:

**TABLA N°2: Diseño para la determinación de la capacidad antioxidante del patrón ácido ascórbico**

<b>GRUPOS</b>	<b>TRATAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>MEDICIÓN DE LA PRUEBA</b>
<b>G<sub>1</sub></b>	-	A <sub>1</sub>
-	Y <sub>2</sub>	A <sub>2</sub>
<b>G<sub>2</sub></b>	Y <sub>3</sub>	A <sub>3</sub>
<b>G<sub>3</sub></b>	Y <sub>4</sub>	A <sub>4</sub>
<b>G<sub>4</sub></b>	Y <sub>5</sub>	A <sub>5</sub>

DONDE:

- G<sub>1</sub>-G<sub>4</sub>: Tubo de ensayo con 1.5 mL de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), a una concentración de 2.925 mg/100 mL.
- Y<sub>2</sub>: Tubo de ensayo con 2 mL de Etanol QP, que actuó como blanco.
- Y<sub>3</sub>, Y<sub>4</sub>, Y<sub>5</sub>: Tubos de ensayo con 0.5 mL de Patrón ácido ascórbico a diferentes concentraciones de 2mg/mL, 1mg/mL, 0.5mg/mL, respectivamente.
- A<sub>1</sub>-A<sub>5</sub>: Absorbancias obtenidas por el espectrofotómetro.

Para evaluar la actividad antioxidante del “extracto etanólico al 96% obtenido de las hojas y tallo de *Taraxacum officinale* (Diente de León)”, se siguió el siguiente diseño:

**TABLA N°3: Diseño para la “determinación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico al 96% obtenido de las hojas y tallo de *Taraxacum officinale* (Diente de León)”**

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

DONDE:

- G<sub>1</sub>-G<sub>n</sub>: Tubo de ensayo con 1.5 mL de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), absorbancia de 0.822 para una longitud de onda a 517 nm (rangos permitidos 0.8 – 1); a concentración de 2.925 mg/100 mL.
- Y<sub>2</sub>: Tubo de ensayo con 2 mL de Etanol QP, que actuó como blanco.
- Y<sub>3</sub>-Y<sub>n</sub>: Tubos de ensayo con 0.5 mL del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a diferentes concentraciones de 4mg/mL, 2 mg/mL, 1 mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.25 mg/mL y 0.125 mg/mL respectivamente.
- A<sub>1</sub>-A<sub>n</sub>: Absorbancias obtenidas por el espectrofotómetro.

**NOTA:** El modelo de ensayo de la actividad antioxidante para el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña), se aplicó de igual forma como se aplicó para Diente de León (*Taraxacum officinale*), a las siguientes concentraciones: 32mg/mL, 16 mg/mL, 8 mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL, 1mg/mL y 0.5 mg/mL, respectivamente.

### 3.2.1.2 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA

Para determinar la susceptibilidad antimicrobiana frente al extracto etanólico al 96% obtenido de las hojas y tallo de *Taraxacum officinale* (Diente de León) y del

aceite esencial obtenido de las hojas *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), frente a cepas ATCC de "*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Trichopyton rubrum*", se siguió el diseño la siguiente manera:

**TABLA N°4: "Determinación de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de León) frente a cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*"**

GRUPOS	TRATAMIENTO EXPERIMENTAL	MEDICIÓN DE LA PRUEBA
<b>G<sub>1</sub></b>	Y <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
<b>G<sub>2</sub></b>	Y <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
<b>G<sub>3</sub></b>	Y <sub>3</sub>	H <sub>3</sub>
<b>G<sub>4</sub></b>	Y <sub>4</sub>	H <sub>4</sub>
<b>G<sub>x</sub></b>	Y <sub>x</sub>	H <sub>x</sub>
<b>G<sub>x+1</sub></b>	Y <sub>x+1</sub>	H <sub>x+1</sub>
<b>G<sub>x+2</sub></b>	Y <sub>x+2</sub>	H <sub>x+2</sub>

DONDE:

- G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ... G<sub>x+1</sub>, G<sub>x+2</sub>: Cepas de *Escherichia coli* que fueron sembradas en la placa Petri.
- Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, ... Y<sub>x</sub>: Discos empapados con extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a diferentes concentraciones 400mg/mL, 367 mg/mL, 333 mg/mL, 300 mg/mL, 267 mg/mL, 233 mg/mL, 200 mg/mL, 133 mg/mL, 67 mg/mL, 33 mg/mL, y 16 mg/mL.
- Y<sub>x+1</sub>: Disco de control positivo (Ciprofloxacino 4 µG).
- Y<sub>x+2</sub>: Disco con control negativo (Etanol absoluto).
- H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, ... H<sub>x</sub>: Observación y medición de los halos de inhibición.
- H<sub>x+1</sub>: Observación del halo de inhibición del control positivo.
- H<sub>x+2</sub>: Observación del halo de inhibición del control negativo.

**TABLA N°5: “Determinación de la actividad antibacteriana del Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de León) frente a cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*”**

<b>GRUPOS</b>	<b>TRATAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>MEDICIÓN DE LA PRUEBA</b>
G <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
G <sub>2</sub>	Y <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
G <sub>3</sub>	Y <sub>3</sub>	H <sub>3</sub>
G <sub>4</sub>	Y <sub>4</sub>	H <sub>4</sub>
:	:	:
G <sub>x</sub>	Y <sub>x</sub>	H <sub>x</sub>
G <sub>x+1</sub>	Y <sub>x+1</sub>	H <sub>x+1</sub>
G <sub>x+2</sub>	Y <sub>x+2</sub>	H <sub>x+2</sub>

DONDE:

- G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ... G<sub>x+1</sub>, G<sub>x+2</sub>: Cepas de *Pseudomona aeruginosa* que fueron sembradas en la placa Petri.
- Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, ... Y<sub>x</sub>: Discos empapados con extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a diferentes concentraciones 400mg/mL, 367 mg/mL, 333 mg/mL, 300 mg/mL, 267 mg/mL, 233 mg/mL, 200 mg/mL, 133 mg/mL, 67 mg/mL, 33 mg/mL, y 16 mg/mL.
- Y<sub>x+1</sub>: Disco de control positivo (Ciprofloxacino 4 µG).
- Y<sub>x+2</sub>: Disco con control negativo (Etanol absoluto).
- H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, ... H<sub>x</sub>: Observación y medición de los halos de inhibición.
- H<sub>x+1</sub>: Observación y medición del halo de inhibición del control positivo.
- H<sub>x+2</sub>: Observación y medición del halo de inhibición del control negativo.

**TABLA N°6: “Determinación de la actividad antifúngica del Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de León) frente a cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans*”**

<b>GRUPOS</b>	<b>TRATAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>MEDICIÓN DE LA PRUEBA</b>
G <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
G <sub>2</sub>	Y <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
G <sub>3</sub>	Y <sub>3</sub>	H <sub>3</sub>
G <sub>4</sub>	Y <sub>4</sub>	H <sub>4</sub>
:	:	:
G <sub>x</sub>	Y <sub>x</sub>	H <sub>x</sub>
G <sub>x+1</sub>	Y <sub>x+1</sub>	H <sub>x+1</sub>
<b>G<sub>x+2</sub></b>	Y <sub>x+2</sub>	H <sub>x+2</sub>

DONDE:

- G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ... G<sub>x+1</sub>, G<sub>x+2</sub>: Cepas de *Cándida albicans* que fueron sembradas en la placa Petri.
- Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, ... Y<sub>x</sub>: Discos empapados con extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a diferentes concentraciones 400mg/mL, 367 mg/mL, 333 mg/mL, 300 mg/mL, 267 mg/mL, 233 mg/mL, 200 mg/mL, 133 mg/mL, 67 mg/mL, 33 mg/mL, y 16 mg/mL.
- Y<sub>x+1</sub>: Disco con control positivo (Fluconazol 25 µG).
- Y<sub>x+2</sub>: Disco con control negativo (Etanol absoluto).
- H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, ... H<sub>x</sub>: Observación y medición de los halos de inhibición.
- H<sub>x+1</sub>: Observación y medición del halo de inhibición del control positivo.
- H<sub>x+2</sub>: Observación y medición del halo de inhibición del control negativo.

**TABLA N°7: “Determinación de la actividad antifúngica del Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de León) frente a cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum*”**

<b>GRUPOS</b>	<b>TRATAMIENTO EXPERIMENTAL</b>	<b>MEDICIÓN DE LA PRUEBA</b>
G <sub>1</sub>	Y <sub>1</sub>	H <sub>1</sub>
G <sub>2</sub>	Y <sub>2</sub>	H <sub>2</sub>
G <sub>3</sub>	Y <sub>3</sub>	H <sub>3</sub>
G <sub>4</sub>	Y <sub>4</sub>	H <sub>4</sub>
:	:	:
G <sub>x</sub>	Y <sub>x</sub>	H <sub>x</sub>
G <sub>x+1</sub>	Y <sub>x+1</sub>	H <sub>x+1</sub>
<b>G<sub>x+2</sub></b>	Y <sub>x+2</sub>	H <sub>x+2</sub>

DONDE:

- G<sub>1</sub>, G<sub>2</sub>, ... G<sub>x+1</sub>, G<sub>x+2</sub>: Cepas de *Trichopyton rubrum* que fueron sembradas en la placa Petri.
- Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, ... Y<sub>x</sub>: Discos empapados con extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León) a diferentes concentraciones 400mg/mL, 367 mg/mL, 333 mg/mL, 300 mg/mL, 267 mg/mL, 233 mg/mL, 200 mg/mL, 133 mg/mL, 67 mg/mL, 33 mg/mL, y 16 mg/mL.
- Y<sub>x+1</sub>: Disco con control positivo (Terbinafina 30µG).
- Y<sub>x+2</sub>: Disco con control negativo (Etanol absoluto).
- H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>, ... H<sub>x</sub>: Observación y medición de los halos de inhibición.
- H<sub>x+1</sub>: Observación y medición del halo de inhibición del control positivo.
- H<sub>x+2</sub>: Observación y medición del halo de inhibición del control negativo.

**NOTA:** El modelo de ensayo de la actividad antibacteriana y antifúngica para el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), se aplicó de igual forma como se aplicó para Diente de León (*Taraxacum officinale*), a las concentraciones del 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10% y 5%.

### 3.3 VARIABLE: DEFINICIÓN CONCEPTUAL Y OPERACIONAL

#### 3.3.1 VARIABLES IMPLICADAS:

##### 3.3.1.1 VARIABLES INDEPENDIENTES:

#### A. Concentración del extracto etanólico al 96% de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león)

**Definición Conceptual:** Es la cantidad del extracto etanólico al 96% de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león), obtenidos por maceración con un solvente orgánico y evaporación a sequedad, quedándonos con el principio activo requerido para cumplir con la función Farmacoterapéutica. <sup>(120)</sup>

**Definición Operacional:**

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Forma de medición:** Directa

**Escala:** Razón

**Instrumento de medición:** Balanza analítica

**Procedimiento:** Se pesó el extracto seco (mg) luego se realizó su disolución en etanol QP (mL) y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.

**Expresión final de la variable:** mg/mL

#### B. Concentración del Aceite esencial de hojas de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)

**Definición Conceptual:** Cantidad de aceites esencial definida como mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por la planta en estudio; requeridos para cumplir con la función Farmacoterapéutica. <sup>(121)</sup>

**Definición Operacional:**

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Forma de medición:** Directa

**Escala:** Razón

**Instrumento de medición:** Micropipeta

**Procedimiento de medición de la variable:** Se midió el volumen del “aceite esencial” en mL de hojas de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua muña). Y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.

**Expresión final de la variable:** Porcentaje (%)

### 3.3.1.2 VARIABLES DEPENDIENTES:

#### A. Actividad antimicrobiana

##### A.1. Actividad antibacteriana

**Definición Conceptual:** Es la acción que tiene una sustancia para inhibir el crecimiento o matar a las bacterias parcial o totalmente. <sup>(122)</sup>

**Definición Operacional:**

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Forma de medición:** Directa

**Escala:** Razón

**Instrumento de medición:** Vernier

**Procedimiento de la medición de la variable:** Se midió los “halos de inhibición” de las placas inoculadas, producido a distinta concentración del extracto y del aceite usando el vernier.

**Expresión final de la variable:** milímetros (mm)

##### A.2. Actividad antifúngica

**Definición Conceptual:** Término referido a las sustancias capaces de generar destrucción o inhibición de hongos a nivel celular, evitando mayor proliferación y daño en su hospedador. <sup>(114)</sup>

**Definición Operacional:**

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Forma de medición:** Directa

**Escala:** Razón

**Instrumento de medición:** Vernier

**Procedimiento de la medición de la variable:** Se pasó a medir los “halos de inhibición” de las placas inoculadas, producido a distinta concentración del extracto y del aceite usando el vernier

**Expresión final de la variable:** milímetros (mm)

## **B. Actividad antioxidante**

**Definición Conceptual:** Compuestos endógeno y exógenos capaces de evitar oxidación molecular, con capacidad de inhibir y propagar la formación de “reacciones en cadena de los radicales libres”. <sup>(123)</sup>

**Definición Operacional:**

**Naturaleza:** Cuantitativa

**Forma de medición:** Directa

**Escala:** Razón

**Instrumento de medición:** Espectrofotómetro UV visible

**Procedimiento de la medición de la variable:** Se midió los niveles de oxidación en el espectrofotómetro obteniendo las diferencias absorbancias y logrando obtener el porcentaje de captación de radicales libres.

**Expresión final de la variable:** Porcentaje (%)

### **3.3.2 VARIABLES NO IMPLICADAS:**

#### **3.3.2.1 VARIABLE INTERVENIENTE:**

##### **3.3.2.1.2 DE LA ESPECIE VEGETAL:**

- **Tiempo de recolección**
- **Lugar de recolección:** Se realizó la colecta de las plantas estudiadas en Yucay, provincia de Urubamba-Cusco.
- **Temporada de recolección:** Se recolectaron en los meses de febrero y marzo.
- **Horario de recolección:** Se recolectó en horario matutino 7am.
- **Partes de la planta a estudiar:** Se estudió las hojas de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y las hojas y tallos de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña).
- **Estadio de crecimiento:** plantas maduras con flores

**Procedimiento de la medición de la variable:** Se recogió las hojas y los tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) en la mañana, se dejó secar durante 2 semanas.

**Instrumento de medición:** Se utilizó una habitación acondicionada a temperatura ambiente y sin filtro de sol o humedad, para mantener un adecuado proceso de secado.

**Expresión final de la variable:** Días

##### **3.3.2.1.3 DE LAS CEPAS ATCC:**

- **Medio de cultivo:** Se utilizó los medios de cultivo Agar Mac Conkey, Agar Cetrimide, Agar Sabouraud, Mueller Hilton y Caldo Brain Heart Infusion (BHI).

- **Bacterias:** Cepas ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomona aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Trichopyton rubrum* estandarizadas y certificadas.
- **Tipo de bacterias**
- **Procedimiento de la medición de la variable:** Se activó las cepas indicadas tal como indica en su manual de procedimiento de activación. (ANEXO 08) utilizando los agares mencionados.

**Expresión final de la variable:** Tiempo de incubación

**TABLA N°8: Variables implicadas**

<b>OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES IMPLICADAS</b>									
<b>INDEPENDIENTES</b>									
<b>VARIABLES</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>DEFINICION DE VARIABLES</b>	<b>DEFINICION CONCEPTUAL DE INDICADORES</b>	<b>NATURA-LEZA DEL INDICADOR</b>	<b>FORMA DE MEDICION</b>	<b>ESCALA DE MEDICION</b>	<b>PROCEDI-MIENTO DE LA MEDICION</b>	<b>INSTRU-MENTO</b>	<b>EXPRESI ON FINAL</b>
Concen-tración del extracto etanólico al 96% de las hojas y tallos de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de León)	Concentración, calidad y cantidad de principio activo extraído por el proceso de extracción etanólico al 96%.	Es la cantidad del extracto etanólico al 96% de las hojas y tallos de <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león), obtenidos por la eliminación de del solvente de extracción para aumentar el contenido de sólidos en el extracto y así obtener su principio activo; requeridos para cumplir con la acción farmacológica adecuada. <sup>(120)</sup>	“Son extractos líquidos concentrados, obtenidos de la extracción de una planta o parte de ella, utilizando como solvente alcohol y agua. Presentan sedimento, color y aroma, característicos de la planta de la cual se obtiene”. <sup>(120)</sup>	Cuantitativa	Directa	Razón	Se procedió a pesar el extracto seco (mg) luego se realizó su disolución en etanol QP (mL) y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.	Balanza analítica	mg/mL
Concen-tración del aceite esencial de hojas de <i>Minthostachys spicata</i> (Q'eshua muña)	Volumen de aceite esencial comparado con la actividad antibacteriana frente a las	Cantidad de aceites esencial definida como mezclas de varias sustancias químicas biosintetizadas por la planta en estudio; requeridos para cumplir con la acción	Técnica utilizada comúnmente en procesos de obtención de aceite esencial de plantas aromáticas, para poder usarlas con fines	Cuantitativa	Directa	Razón	Se midió el volumen del “aceite esencial en (mL) de hojas de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña)” obtenidos después de la destilación por	Micro pipetas de 10ul-100ul	% y mg/mL

	cepas en estudio.	farmacológica adecuada. <sup>(121)</sup>	farmacológicos, industriales o alimenticios. <sup>(124)</sup>				arrastre de vapor. Y se tomó la cantidad necesaria con una micropipeta.		
DEPENDIENTES									
VARIABLES	INDICADORES	DEFINICION DE VARIABLES	DEFICION CONCEPTUAL DE INDICADORES	NATURA-LEZA DEL INDICADOR	FORMA DE MEDICION	ESCALA DE MEDICION	PROCEDI-MIENTO DE LA MEDICION	INSTRU-MENTO	EXPRESI ON FINAL
Actividad anti-microbiana	Actividad antibacteriana	"El término se refiere a una sustancia cuyas propiedades son capaces de eliminar agentes bacterianos o la inhibición de su crecimiento o proliferación sin incurrir en el daño del objeto, ambiente u organismo que las porta". <sup>(115)</sup>	"Es la capacidad inherente de una sustancia de origen sintético o natural que tiene capacidad de inhibir el crecimiento o matar a las bacterias". <sup>(122)</sup>	Cuantitativa	directa	razón	Se midió los "halos de inhibición del crecimiento bacteriano producido por las diferentes concentraciones del extracto y del aceite esencial usando el vernier"	vernier	mm
	Actividad antifúngica		"El concepto de agente antifúngico o antimicótico engloba cualquier sustancia capaz de producir una alteración tal de las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, directa o indirectamente". <sup>(114)</sup>						
Actividad antioxidante	Absorbancias obtenidas	Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. <sup>(123)</sup>	Medida que refleja cómo se atenúa la radiación cuando	Cuantitativa	Indirecta	Razón	Se midió los niveles de oxidación en el espectrofotometr	Espectrofotómetro UV visible	%

			atraviesa un elemento. <sup>(125)</sup>				o obteniendo las diferencias absorbancias y logrando obtener el porcentaje de captación de radicales libres.		
--	--	--	---	--	--	--	--	--	--

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

**TABLA N°9: Variables no implicadas**

<b>OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES NO IMPLICATIVAS</b>	
<b>INTERVINIENTES</b>	
<b>DE LAS MUESTRAS VEGETALES</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Tiempo de recolección</li> <li>• Lugar de recolección</li> <li>• Altitud del lugar</li> <li>• Temperatura del secado</li> <li>• Lugar del secado (Ventilación, luz, temperatura, grado de humedad)</li> <li>• Parte de la planta a estudiar</li> <li>• Estadio de crecimiento</li> </ul>
<b>DE LAS CEPAS ATCC</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Medio de cultivo</li> <li>• Tipo de bacterias</li> <li>• Estado de crecimiento</li> <li>• Procedimiento de la variable para la activación</li> </ul>

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

### **3.4 CRITERIOS DE SELECCIÓN**

#### **3.4.1 DE LA PLANTA EN ESTUDIO**

##### **3.4.1.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN**

- Se recolectó las plantas en Yucay, provincia de Urubamba - Cusco.
- Partes aéreas (hojas, tallo) de la especie *Taraxacum officinale* (Diente de león) y de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)
- Todas las hojas y tallos que no han sido atacados por insectos, ni tengan plaguicidas.

##### **3.4.1.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN**

- Flores y raíz de la especie *Taraxacum officinale* (Diente de león) y de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña).
- Todas las flores, tallos y raíces que han sido atacados por insectos o contengan plaguicidas.
- Muestra que presentan deterioro.
- Plantas que se encuentren fuera de la zona de recolección.

#### **3.4.2 DE LAS CEPAS BACTERIANAS**

##### **3.4.2.1 CRITERIO DE INCLUSIÓN**

- Se incluyó cepas ATCC de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans* y *Trichopyton rubrum*.

##### **3.4.2.2 CRITERIO DE EXCLUSIÓN**

- Cepas que no estén en buenas condiciones (contaminación).

### **3.5 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.**

- Observación
- Formato de recolección de las especies en estudio. (ANEXO 09)
- Ficha de recolección de datos para ambas actividades. (ANEXO 10)

### **3.6 TÉCNICAS PARA PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN**

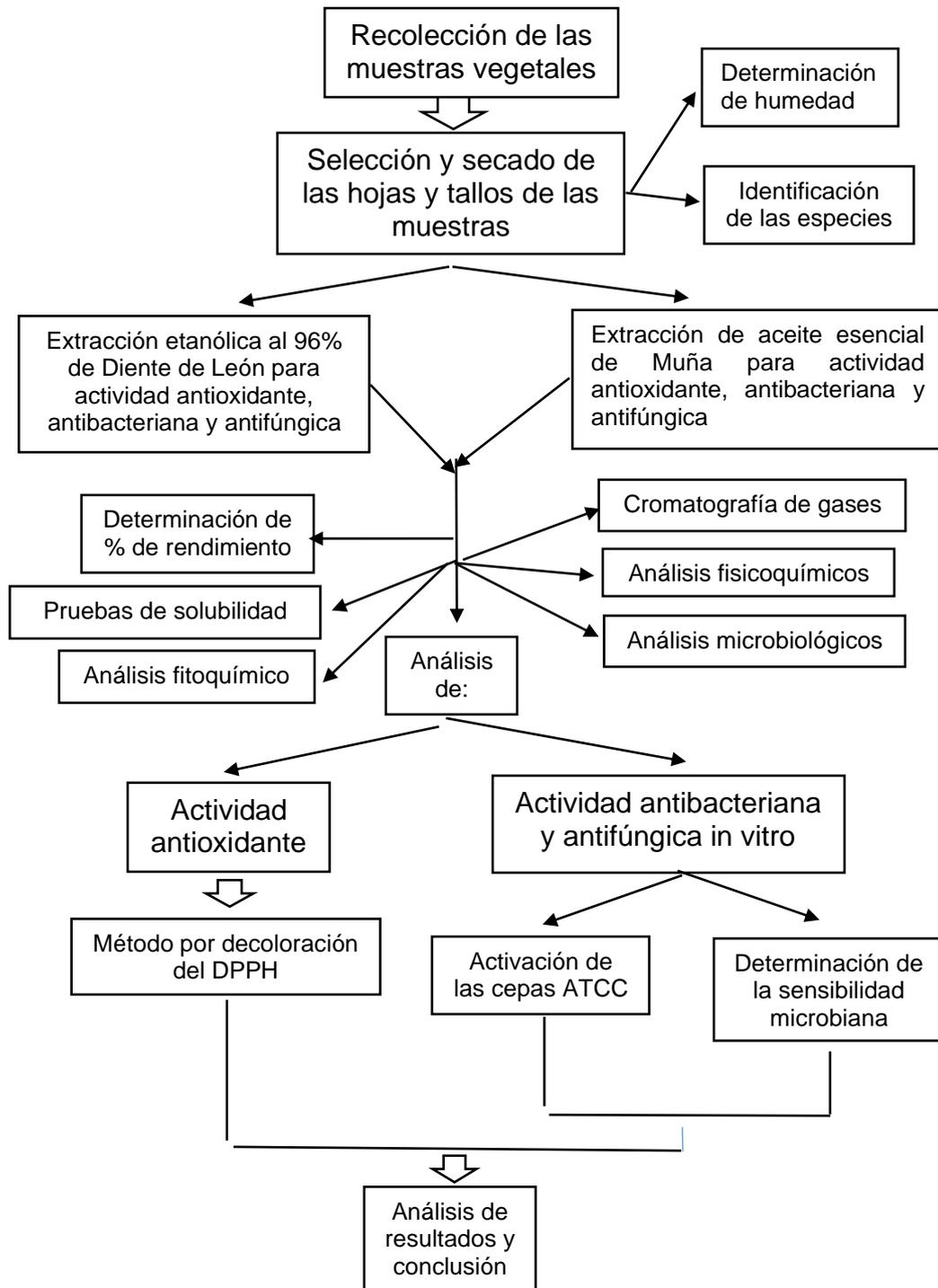
Para organizar de manera adecuada los datos obtenidos en primer lugar se ordenó los datos en una matriz de sistematización de datos en Excel luego fueron procesados con el software SPSS 25.0 para lo cual se consideró lo siguiente:

- Distribución de frecuencia absoluta y porcentual.
- Medida de tendencia central y dispersión.
- Análisis de varianza y test de Duncan.
- Nivel de confiabilidad utilizado será del 95 %.

### 3.7 PROCEDIMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN

#### 3.7.1. PROCEDIMIENTO GENERAL DE LA INVESTIGACION

**FLUJOGRAMA N°1: Procedimiento general**



**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

## 3.8 MUESTREO Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

### 3.8.1 ELECCIÓN DE LA MUESTRA VEGETAL

- A. INFORMACIÓN:** Se obtuvo toda la información necesaria del *Taraxacum officinale* (Diente de león) y de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) en páginas de investigación sobre las plantas medicinales y se realizó la identificación taxonómica en el "Herbario Vargas (CUZ) de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco" de acuerdo a la clasificación al sistema moderno de clasificación de Judd.
- B. RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA:** Se hizo una recolección de la planta de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) en el distrito de Yucay, provincia de Urubamba, Departamento de Cusco, a 2885-2890 msnm. Estas se preservaron en bolsas de polietileno transparente.
- C. SELECCIÓN:** Se seleccionó los tallos y hojas para *Taraxacum officinale* (Diente de león) y solo hojas de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), y se escogió las partes que no estaban dañadas.
- D. LAVADO:** Antes de hacer el respectivo secado se lavó cada parte de la planta con el fin de evitar residuos que alteren la calidad de muestra y perjudiquen los resultados obtenidos.
- E. SECADO:** Se realizó en mesas cubiertas con papel de azúcar, en una habitación sin acceso a la luz, con bastante ventilación y de acuerdo a la humedad se fueron volteando y cambiando de papel.
- F. MOLIENDA:** Se utilizó un molino, desinfectado con alcohol.
- G. TAMIZADO:** Seguidamente se tamizaron ambas especies por separado para sacar las partes sin moler, para ello se usó malla nro.40
- H. CONSERVACIÓN:** Se guardó ambas especies en envases de color ámbar, rotulados con el nombre, fecha y número de grupo. <sup>(126)</sup>

### 3.8.2 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE HUMEDAD

Se realizó en “placas Petri”, muestras por triplicado, en la estufa del “laboratorio de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco”, a una temperatura de 40°C, la determinación de la humedad se calculó con la siguiente fórmula:

$$\%H = \frac{P_1 - P_2}{P_1}$$

**Dónde:**

- %H = Porcentaje de humedad
- P1 = Peso de muestra fresca
- P2 = Peso de muestra seca <sup>(22)</sup>

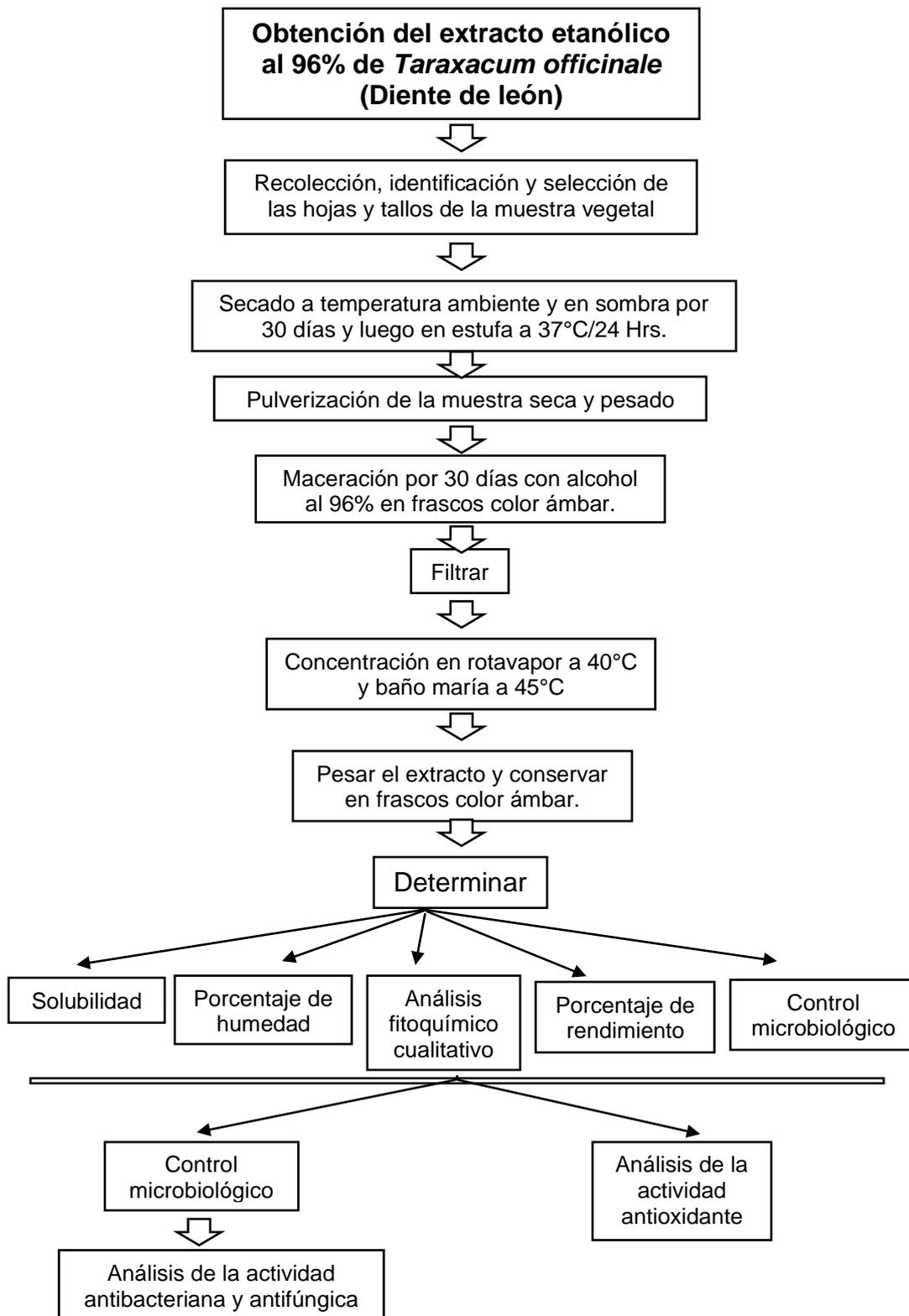
### 3.8.3 OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

El material seco y molido obtenido de las 02 plantas se sometió a un proceso de extracción de los metabolitos secundarios, para ello se realizó los siguientes pasos:

#### 3.8.3.1 OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)

Para el proceso de extracción etanólica al 96% se usó 730 gr. de las hojas y tallos de la planta molido (muestra seca), los cuales fueron macerados con 4 litros de etanol al 96% en frascos de vidrio color ámbar debidamente etiquetados, se agitó diariamente por un periodo de 30 días a temperatura ambiente. Esta solución fue filtrada y luego evaporada a sequedad en el rotavapor a 40°C y en baño maría a 45 °C, obteniéndose el extracto seco etanólico. Este extracto se utilizó para las pruebas de solubilidad, análisis fitoquímico cualitativo, determinación de la actividad antioxidante, determinación de la actividad antibacteriana y antifúngica. <sup>(127)</sup>

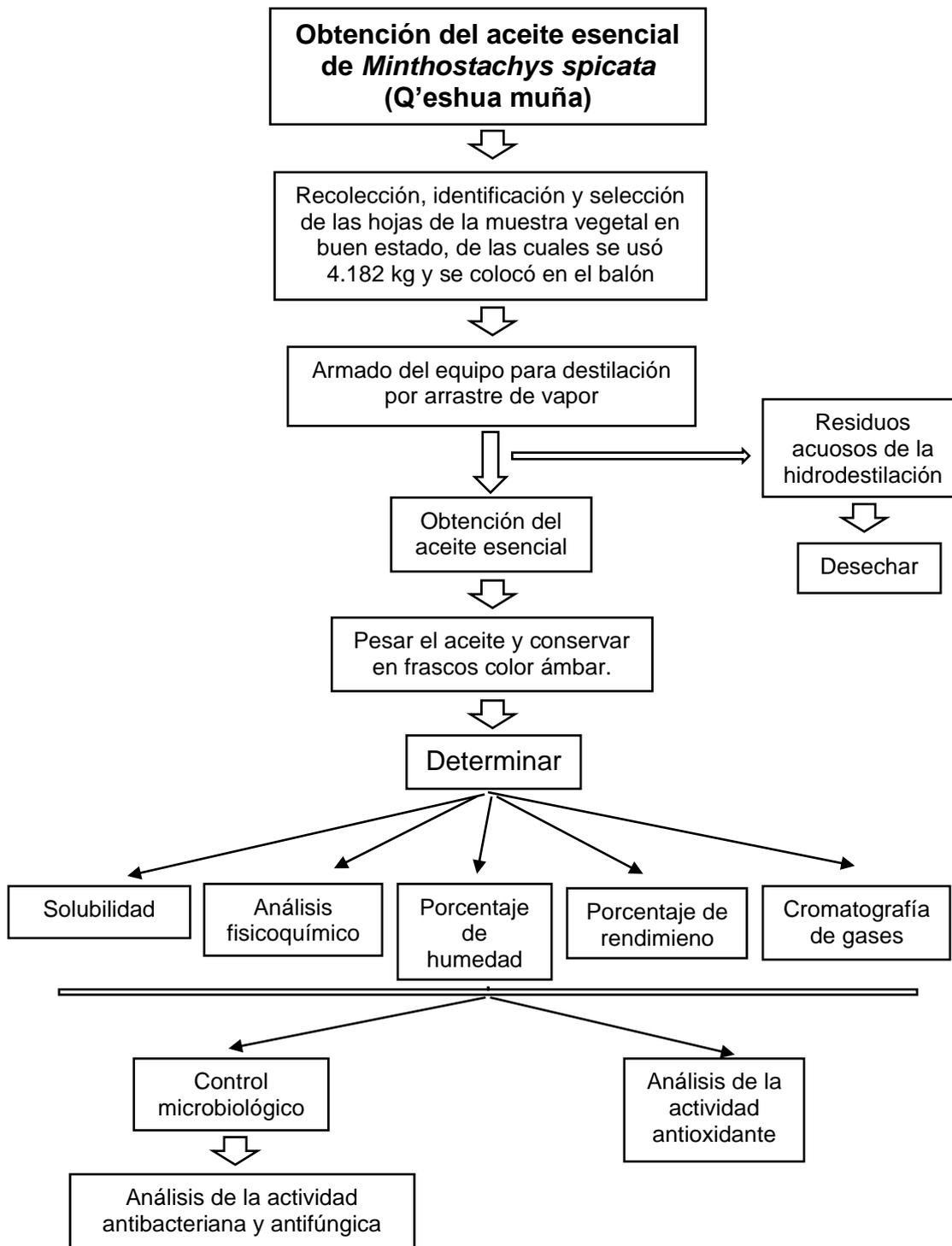
## FLUJOGRAMA N°2: Obtención de extracto



FUENTE: Elaboración propia, 2020. Referencia Espadero, 2018 <sup>(127)</sup>

### 3.8.3.2 OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

FLUJOGRAMA N°3: Obtención del aceite esencial



FUENTE: Elaboración propia, 2020. Referencia Moina, 2015 <sup>(42)</sup>

### 3.8.4 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Se calculó con la siguiente expresión:

Dónde:

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

- **% 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 <sup>(40)</sup>

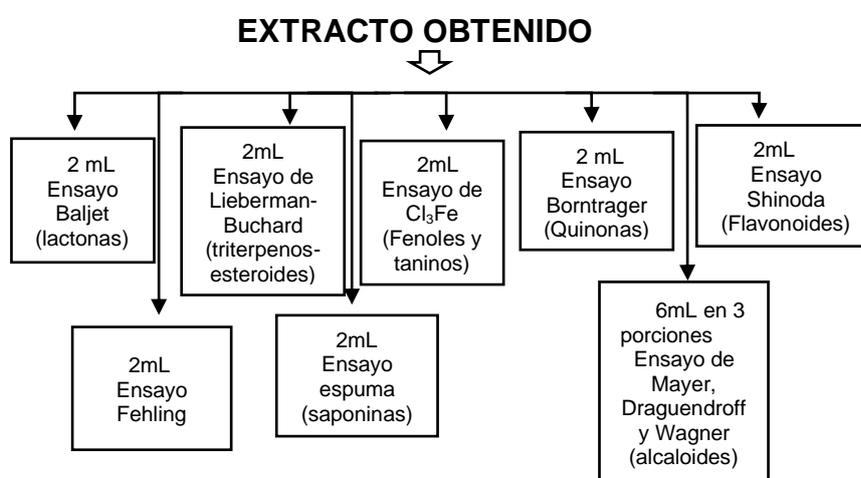
### 3.8.5 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

Para realizar las pruebas de solubilidad para todos los extractos se tomó unos cuantos miligramos del extracto seco etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león), se depositaron en “tubos de ensayo” agregando 1 mL de solventes de diferentes polaridades: agua, metanol, etanol 40%, etanol 70%, etanol absoluto, acetona, acetato de etilo, cloroformo, y hexano. <sup>(40)</sup>

### 3.8.6 ANÁLISIS FITOQUÍMICO COLORIMÉTRICO

El análisis Fitoquímico del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) se realizó de la siguiente manera: (ANEXO 11)

#### FLUJOGRAMA N°4: Análisis fitoquímico colorimétrico



FUENTE: Elaboración Propia, 2020. Referencia: Lalón (2012) <sup>(128)</sup>

### 3.8.7 CROMATOGRAFÍA DE GASES

Se realizó este estudio con el fin de poder obtener de manera específica los diferentes compuestos químicos presentes en *Minthostachys spicata* (Q'eshua

muña) y con ello poder dar a conocer los metabolitos mayoritarios capaces de generar actividad antioxidante y antimicrobiana. <sup>(42)</sup>

### **3.8.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS OBTENIDOS**

La 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), se realizó por el método de viración de color del "radical 1,12-difenil,2–picrilhidrazilo" DPPH, introducido por Brand-Williams.

#### **3.8.8.1 METODOLOGÍA DEL RADICAL "1-1-DIFENIL-2-PICRILHIDRAZILLO"**

##### **3.8.8.1.1 PREPARACIÓN DE SOLUCIÓN PATRÓN**

- Se diluyó 3.9mg de DPPH Sigma Aldrich, en 100mL de etanol absoluto, dejando reaccionar a T° ambiente por 24 hrs. Sin acceso a la luz. Pasado el tiempo se midió la absorbancia del DPPH e hicimos 03 disoluciones, de esa manera se logró mantener el DPPH en el rango permitido de 0.8 – 1 de absorbancia, a 517 nm. Una vez obtenido la disolución adecuada de DPPH se procedió a mezclar con las diferentes preparaciones de las muestras. (ANEXO 12)
- Se preparó una solución stock de 20 mg de ácido ascórbico/10 mL de etanol absoluto, a partir de ello se preparó disoluciones de concentraciones de 2 mg/mL, 1 mg/mL y 0.5 mg/mL para realizar la curva referencial de comparación. <sup>(41)</sup> (ANEXO 13)

##### **3.8.8.1.2 PREPARACIÓN DE LA CURVA REFERENCIAL**

A 1.5 mL de DPPH se le agregó 0.5 mL de ácido ascórbico a diferentes concentraciones; se midió las absorbancias pasando 30´min a 517 nanómetros, y se calculó el porcentaje de captación representada a simple vista por la viración de color de violeta a amarillo y cuantitativamente se puede verificar con la siguiente fórmula: (ANEXO 14)

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A \text{ inicial} - A \text{ final}}{A \text{ inicial}} \times 100$$

### **3.8.8.1.3 MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)**

En una “celda” de plástico se añadió 1.5 mL de “DPPH”, medimos la “absorbancia” a 517 nm, con la finalidad de mantener el rango permitido de 0.8 – 1, luego se adicionó 0.5 mL de cada disolución preparada y se guardó en la oscuridad por 30 minutos, terminado el tiempo se volvió a medir las absorbancias para cada concentración considerando las mismas medidas para el equipo. <sup>(40)</sup>

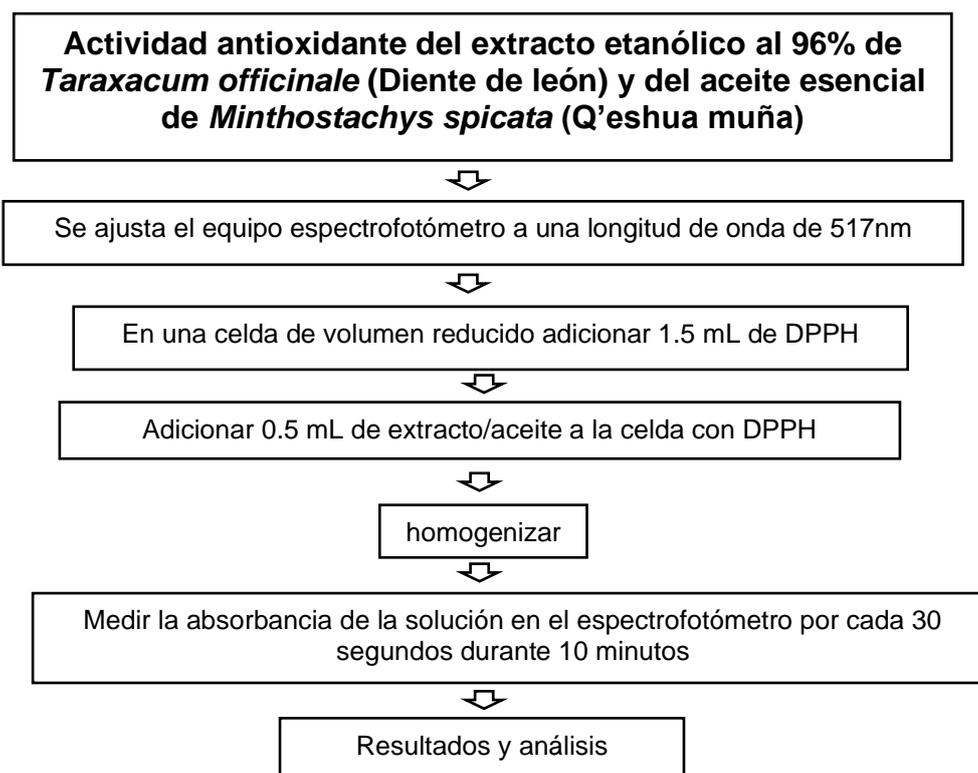
Para realizar la evaluación de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) se determinó:

- Se preparó la solución madre inicial de 40 mg/10 mL de etanol absoluto. De dicha solución se preparó diluciones de “4 mg/mL, 2mg/mL, 1mg/mL, 0.5 mg/mL, 0.25 mg/mL y 0.125 mg/mL”. (ANEXO 15)
- Se midió la absorbancia del “DPPH” con el fin de obtener nuevamente el rango correcto de 0.8-1, una vez obtenido el “DPPH” correcto se mezcló con el extracto a diferentes concentraciones en una proporción 1.5mL:0.5mL respectivamente. (ANEXO 16)
- Finalmente se leyeron las absorbancias y se hicieron los cálculos correspondientes. <sup>(40,129)</sup>

### **3.8.8.1.4 MEDICIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA)**

Para realizar la evaluación de la actividad antioxidante del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña), se mantuvo el mismo procedimiento que el extracto, considerando que la solución madre a preparar fue de 320 mg/10mL de etanol absoluto y las disoluciones fueron de 32mg/mL, 16mg/mL, 4mg/mL, 2mg/mL, 1mg/mL y 0.5mg/mL. <sup>(40,130)</sup> (ANEXO 17 Y 18)

## FLUJOGRAMA N°5: Actividad antioxidante procedimiento



FUENTE: Elaboración propia, 2020. Referencia Bhorquez, 2016 <sup>(130)</sup>

### 3.8.9 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA MEDIANTE METODO DE DIFUSIÓN DISCOS EN PLACA

#### 3.8.1.1 PROCESAMIENTO BACTERIOLÓGICO

##### A. CEPAS ATCC: REACTIVACIÓN DE BATERIAS Y HONGOS

Las cepas ATCC se obtuvieron en Microbiologics – Genlab del Perú y para su reactivación se usaron Agares específicos, entre estos Agar MacConkey para cepa ATCC *E. coli*, Agar Cetrimide para *P. aeruginosa* y para las cepas ATCC de *Cándida albicans* y *T. rubrum* Agar Sabouraud; con las cuales se procedió activar tal y como indican las instrucciones de Microbiologics Inc. Finalmente se incubaron de acuerdo a las indicaciones y protocolos de cada cepa.

Donde:

- Cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*: Se incubó en un rango de 35 - 37 °C por 24 horas. (ANEXO 19)

- Cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*: Se incubó en un rango de 35 - 37 °C por 18 - 48 horas. (ANEXO 20)
- Cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans*: Se incubó en un rango de 20 - 25 °C por 7 días. (ANEXO 21)
- Cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum*: Se incubó en un rango de 20 - 25 °C por 7 - 14 días. (ANEXO 22)

Luego de haber obtenido las cepas activas se toma un raspado para su conservación con caldo BHI. <sup>(131,132)</sup>

## **B. CONSERVACIÓN DE LAS BACTERIAS Y HONGOS**

Las bacterias y hongos aisladas fueron conservadas en tubos con 6 ml de caldo BHI debidamente rotulados y codificados e incubados a 37°C por un tiempo de 6 Hrs para bacterias y a 25°C por 6 Hrs para hongos, para posteriormente ser conservados a 4°C en refrigerador y replicados a un medio nuevo cada 15 días para la conservación de la cepa. <sup>(131,132)</sup> (ANEXO 22)

## **C. PREPARACIÓN DEL INÓCULO:**

Se seleccionó 3 a 4 colonias de las placas Petri activadas ya sea de bacterias o de los hongos y se diluyó en caldo BHI, para ello se realizó el ajuste de la turbidez del inóculo antimicrobiano y se hizo coincidir con la escala MacFarland “equivalente a  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL”, observando los tubos contra un “fondo blanco con líneas negras como contraste”. <sup>(133)</sup> Para la obtención de la suspensión de *Cándida albicans* y *Trichophytom rubrum* también se utilizó el mismo medio, ya que crecen bien en medios de cultivo con BHI.

## **D. INOCULACIÓN DE LAS PLACAS**

Con un hisopo seco y estéril se sembró el inóculo microbiano en toda la superficie de las placas Petri siguiendo cuatro direcciones diferentes para conseguir una buena inoculación microbiana y se dejó reposar durante 15 minutos. <sup>(133)</sup> Luego se colocaron diferentes cantidades de los extractos de la siguiente manera:

- Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león): “400 mg/mL, 367 mg/mL, 333 mg/mL, 300 mg/mL, 267 mg/mL, 233 mg/mL, 200 mg/mL, 133 mg/mL, 67 mg/mL, 33 mg/mL, 16,67 mg/mL”. (ANEXO 24).
- Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña): 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%.
- Control positivo (Ciprofloxacino 4 mg para *E. coli* y *P. aeruginosa*, fluconazol 25 µg para *Candida albicans* y Terbinafina 30 µg para *T. Rubrum*) en cada disco. Finalmente se incubó en cada placa, por el tiempo especificado para cada cepa. (ANEXO 25)

#### **E. APLICACIÓN DE DISCO:**

Se puso cada disco de manera individual sobre el agar de las distintas placas con la ayuda de una pinza estéril, se distribuyó todos los discos a una distancia mínima de 25 mm uno del otro. <sup>(133)</sup>

#### **F. INCUBACIÓN:**

Se incubó las placas en la incubadora de manera invertida una vez pasado los 15 minutos de aplicación de los discos a la temperatura específica para cada cepa, indicada en cada protocolo. Una vez pasado el tiempo prudente para cada especie, con un Vernier se procedió a medir los halos correspondientes. <sup>(133)</sup>

#### **G. LECTURA DE LAS PLACAS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS**

La sensibilidad microbiana se evaluó pasadas las 24 horas para las bacterias y de 24 a 48 horas para los hongos, se midió el halo de inhibición con un vernier. <sup>(40)</sup>

## FLUJOGRAMA N°6: Actividad antimicrobiana procedimiento



Fuente: Elaboración propia, 2020. Referencia Tello, 2011 <sup>(132)</sup>

## CAPITULO IV

### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

#### 4.1 PORCENTAJE DE HUMEDAD DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

Los resultados del porcentaje de humedad de las plantas en estudio *Taraxacum officinale* (Diente de león) y *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña). Se muestran en la siguiente tabla:

**TABLA N°10: Resultado del porcentaje de humedad de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**

ESPECIE	Peso de muestra fresca	Peso de muestra seca	% de humedad	Promedio de % de humedad
<i>Taraxacum Officinale</i> (Diente de León)	10.129 g	1.611 g	84.10%	83.76%
	10.170 g	1.720 g	83.09%	
	10.020 g	1.594 g	84.09%	
<i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua Muña)	5.036 g	1.194 g	76.29%	75.39%
	4.991 g	1.225 g	75.46%	
	5.111 g	1.307 g	74.43%	

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°10 se puede apreciar los valores del promedio de porcentaje de humedad obtenidos en las muestras vegetales en estudio, dando para *Taraxacum officinale* (Diente de león) un promedio de 83.76 % y *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) 75.39 %, porcentajes relativamente elevados, lo que condicionaría un mayor cuidado de las plantas, pues podrían contaminarse por microorganismos si no se conservan adecuadamente.

#### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Cabrera Suárez**, 2012 <sup>(134)</sup> este tipo de estudio es de suma importancia pues una alta cantidad de agua podría generar crecimiento de bacterias, hongos,

insectos, generando en la especie a un deterioro total con pérdida de sus principios activos.

Tomando en cuenta la referencia inicial, se tomó una alta precaución en el proceso de secado en ambas plantas recolectadas, evitando así la descomposición y alteración de los metabolitos presentes en las plantas.

#### **4.2 PORCENTAJE DE RENDIMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)**

Los resultados del porcentaje de rendimiento del extracto etanólico al 96% de *taraxacum officinale* (diente de león) y del aceite esencial de *minthostachys spicata* (q'eshua muña), se muestran en la siguiente tabla:

**TABLA N°11: Resultado del porcentaje de rendimiento de Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) y del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña)**

<b>ESPECIE</b>	<b>CANTIDAD DE MATERIA PRIMA</b>	<b>CANTIDAD DE EXTRACTO SECO Y/O ACEITE ESENCIAL</b>	<b>PORCENTAJE DE RENDIMIENTO</b>
Taraxacum Officinale (Diente De León)	730 gr.	55.92 gr.	7.66%
Minthostachys Spicata (Q'eshua Muña)	4.182 kg.	10.5 mL	0.25%

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

#### **RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

En la tabla N°11 se muestran que el porcentaje de rendimiento obtenido por maceración con etanol al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) fué de 7.66 %, valor relativamente bajo para la cantidad de materia prima que se llegó a utilizar. No obstante, la cantidad obtenida fue suficiente para continuar con toda la investigación planteada. Del mismo modo, para el caso de la especie de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña) el valor obtenido fué de 0.25 % dato relativamente bajo, pero concordante a lo encontrado en la investigación de **Moina Gallegos, 2015**, <sup>(42)</sup> cuyo porcentaje de rendimiento fue de 0.235%. Se debe considerar también que las variaciones de porcentaje de rendimiento con

otras investigaciones pueden darse por: “factores climáticos, altitud de cultivo, tipo de suelo, época de recolección y método de extracción”.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Castro Sumaria, 2011.** <sup>(135)</sup> Estos datos nos permiten “determinar la cantidad de muestra vegetal que necesitamos para la realización de los diferentes ensayos del trabajo de investigación, además nos da información que nos permite saber si la planta es una buena materia prima o no”.

Por lo que, se necesita tomar en cuenta la valoración de este procedimiento, pues con ello logramos obtener la cantidad y la calidad necesaria de materia prima para realizar toda la investigación sin problema alguno. En esta investigación se logró usar el 100% de extracto y aceite obtenido, alcanzando con éxito para todos los procedimientos requeridos, aunque consideramos que el extracto no es buena materia prima, ya que se requiere demasiada planta para realizar los estudios correspondientes, al menos de la zona recolectada, por lo que se tendría que evaluar la recolección en zonas distintas a la estudiada.

### 4.3 ENSAYOS PRELIMINARES

#### 4.3.1 CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA)

A continuación, se describen los datos obtenidos:

**TABLA N°22: Resultado de las características organolépticas de Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) y del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña)**

<b>Características</b>	<b>Extracto Etanólico Al 96° De <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente De León)</b>	<b>Aceite Esencial De <i>Minthostachys Spicata</i> (Q’eshua Muña)</b>
Aspecto	Oleoso	Oleoso
Color	Verde amarillo	Ligeramente amarillo
Olor	Característico	Característico (mentol)
Sabor	Altamente amargo	Amargo y picante

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Según **Kuklinski, 2014**.<sup>(136)</sup> un ensayo organoléptico consiste en comprobar las características apreciables con los sentidos, es decir, color, gusto, olor y textura, con la finalidad de mantener un buen control de calidad de las especies a estudiar, entonces, considerando este concepto, de acuerdo a los datos observados en la tabla N°12 el extracto de *Taraxacum Officinale* (Diente de León), posee un aspecto oleoso, color verde amarillo, olor característico y con un sabor altamente amargo, resultados que muestran que el extracto se encuentra en condiciones óptimas para su uso, del mismo modo el aceite esencial de las hojas y tallos de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) presentó un aspecto oleoso, color ligeramente amarillo, olor característico a mentol y sabor amargo/picante.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a la investigación mostrada por **Chacha, 2018**<sup>(137)</sup> los resultados del extracto hidroetanólico de hojas de Diente de león (*Taraxacum officinale*), presentan características organolépticas con un aspecto líquido, de olor herbáceo característico, amargo y de color café oscuro. Ahora en el caso del estudio mostrado por **Moina, 2015**<sup>(42)</sup> el aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) tiene: “aspecto translúcido, color claro, olor característico al propio aceite esencial, un sabor amargo y medianamente picante”. Datos que no coinciden al 100% con nuestros resultados, esto puede deberse a diversos factores tales como menciona **Kuklinski, 2014**<sup>(136)</sup> en su estudio de drogas y sustancias naturales, enfocando básicamente al tiempo de recolección, la parte recolectada de la planta, la hora de recolección, edad de la especie vegetal, técnicas de recolección y las probables diferencias de altura sobre el mar; quienes podrían generar variaciones significativas en los resultados al momento de obtener un extracto determinado o un aceite esencial como se muestra en este caso.

#### 4.3.2 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

En la observación de propiedades fisicoquímicas presentes en el aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), se muestran los siguientes resultados:

**TABLA N°33: RESULTADO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña)**

PROPIEDADES	RESULTADO
Densidad	0.9010 mg/mL
Índice de refracción	1.4623
Rotación óptica	0.332°
Índice de acidez	0.9223 mgKOH/g
Índice de saponificación	15.62 mgKOH/g

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Las características principales de un aceite esencial se dan por su propiedad física, tal como “densidad”, “viscosidad”, “índice de refracción” y “actividad óptica”, estas constantes físicas se caracterizan por la composición química y por parametrajes de “calidad aromática” que ayudan en la industria a tomar decisiones sobre su uso. <sup>(138)</sup> Según **Castro Mattos, 2012**, <sup>(139)</sup> “densidad mayor a 1,00 indica presencia de terpenos aromáticos, nitrogenados y azufrados y valores menores, presencia de hidrocarburos aromáticos”, teniendo en cuenta lo descrito en la tabla N°13 se muestra que la densidad obtenida del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña) fué de 0.9010 mg/mL, valor que podría indicarnos la presencia de hidrocarburos aromáticos al igual que el estudio de **Moina Gallegos, 2015**, <sup>(42)</sup> quien obtuvo una densidad de 0.936g/mL para el aceite esencial de la misma especie.

Respecto al “índice de refracción”, podemos observar gran similitud frente a lo propuesto en otras investigaciones, como los siguiente: **Fuertes y Munguía, 2012** <sup>(140)</sup> reporta “1,4725 - 1,4746”, **Morales, 2008** <sup>(141)</sup> “1,469”, finalmente **Beltrán, 2010** <sup>(142)</sup> un valor de “1,4983”. Dando como principal punto que: “A > índice de refracción el aceite contendrá > terpenos bencénicos y mientras sea <

el aceite poseerá > compuestos monoterpénicos” (Beltrán, 2010).<sup>(142)</sup> De acuerdo a los resultados el aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña) posee ligeramente más compuestos terpénicos ya que el resultado obtenido fue de 1.4623. El análisis de índice de acidez es un referente para determinar el grado de enranciamiento del aceite (deterioro del aceite en contacto con el aire, humedad, temperatura y tiempo)<sup>(143)</sup> por lo que el valor obtenido de 0.9223 indica que el aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña) es “apta para consumo humano, ya que no supera el límite de acidez de 4.0 mg de KOH/g en ácido linoleico según el codex 19-1981 – enmienda del 2009”.<sup>(144)</sup> Además se obtuvo una rotación óptica de 0.332 y un índice de saponificación de 15.62.

#### 4.3.3 DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 96° DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA)

En la determinación de solubilidad del Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) y del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña), se encontró lo siguiente:

**TABLA N°14: RESULTADO DE SOLUBILIDAD del Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente De León) y del Aceite Esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña)**

Solvente	Aceite Esencial De <i>Minthostachys Spicata</i> (Q’eshua Muña)	Extracto Etanólico Al 96° De <i>Taraxacum Officinale</i> (Diente De León)
Agua destilada	-	+
Metanol	+	+
Etanol 40%	-	+
Etanol 70 %	-	++
Etanol absoluto	+++	+++
Acetona	+++	+++
Acetato de etilo	+++	+++
Cloroformo	++	++
Hexano	++	++

**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

DONDE:

- Muy soluble: +++
- Soluble: ++
- Poco soluble: +
- Insoluble: -

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En base a la tabla N°14 sobre la solubilidad del Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) y del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña) se puede observar que ambas plantas en estudio presentan mayor solubilidad en etanol absoluto, acetona y acetato de etilo, disolventes orgánicos altamente polares. Lo que nos permitió evaluar ambas actividades sin que haya interferencia alguna o genere falsos positivos al momento de obtener los resultados, ya que así se logró tener una disolución total al momento de hacer las diferentes concentraciones.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a **Torrenegra, 2016** <sup>(145)</sup> en su estudio sobre la “Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*”, afirma que: “La presencia de compuestos oxigenados aumenta la afinidad por el solvente por tal razón, además de proveer las notas aromáticas agradables a los aceites esenciales, aumentan su solubilidad en etanol haciéndolos más aptos para su aplicación en la industria”. En el caso de la investigación mostrada por **Castañeda y Miranda, 2018** <sup>(146)</sup> se demostró que la raíz de *Taraxacum officinale* Wigg “diente león” es soluble en solventes polares como: Etanol, n - butanol, metanol, acetato de etilo, acetona y agua destilada. Datos que nos permitieron asegurar la calidad de nuestro extracto para la preparación de nuestras diluciones.

### 4.4 CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

El extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) y el Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), pasaron por “pruebas

microbiológicas” con el fin de determinar la calidad estipulada por la DIGESA. (ver Anexo 26).

**TABLA N°15: RESULTADO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO del Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) y del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña)**

CRITERIOS	RESULTADOS EN LA DILUCIÓN 10 <sup>-1</sup>	LIMITES MICROBIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio imperativo	Ausencia de Salmonella spp.	Salmonella spp: AUSENCIA	La muestra cumple lo LMP
Criterios indicativos de higiene	Número de coliformes fecales	Escherichia Coli: AUSENCIA	La muestra cumple lo LMP
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilos viables: <10 <sup>-2</sup> UFC	10 <sup>-4</sup> -10 <sup>-1</sup> UFC	La muestra cumple lo LMP
	Recuento de hongos y levaduras <10 <sup>-2</sup> UFC	10 <sup>-2</sup> – 10 <sup>-3</sup> UFC	La muestra cumple lo LMP

**FUENTE:** Resultado de control microbiológico. (ANEXO 26)

### ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

En la tabla N°15 se muestran los datos del análisis microbiológico realizado tanto al extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León), como al Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña); para determinar la presencia de microorganismos contaminantes. Los resultados indican que los extractos están libres de contaminación “salmonella, coliformes fecales, mesófilos viables hongos y levaduras”, usando los criterios que se encuentran dentro de los límites de control de calidad a nivel microbiológico indicado por Laboratorio del hospital Regional del Cusco – servicios de bacteriología y microbiología, lo cual nos lleva a decir que los extractos están aptos para el ensayo de la actividad antioxidante y antibacteriana in vitro. <sup>(147)</sup>

#### 4.5 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE LOS COMPONENTES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) POR CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADO A ESPECTOMETRIA DE MASAS

El aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña) fue analizado mediante "cromatografía de gases acoplados a espectrometría de masas" obteniendo los datos que se muestran a continuación:

##### 4.5.1 CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO AL ESPECTRO DE MASAS DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTOSTACHYS SPICATA (Q'ESHUA MUÑA)

Los resultados se muestran a continuación en la siguiente tabla

**TABLA N°16: Resumen de la composición química por cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña)**

Pico	Tiempo de retención	Compuesto	Contenido relativo %
1	3.4026	Thujeno	0.2785
2	3.5167	alpha-pineno	0.5112
3	4.1595	Sabineno	0.508
4	4.2271	(-)- $\beta$ -pineno	0.6753
5	4.4428	beta-mirceno	0.7622
6	4.5189	3-octanol	0.6455
7	5.1194	O-cimeno	1.5326
8	5.2039	D-limoneno	1.5781
9	5.3647	Trans-beta-ocimeno	0.1785
10	5.593	B-cis-ocimeno	1.0465
11	5.8298	gamma-terpineno	0.2804
12	6.7812	$\beta$ -linalool	3.6454
13	7.3183	3-octanol, acetato	0.4481
14	8.1978	L-mentona	16.4816
15	8.4304	Isomentona	9.2194
16	8.5573	DI-menthol	0.3103
17	8.6334	Isopulegona	0.8674
18	9.6609	3-heptene, 2,2,3,5,6-pentamethyl-	0.4708
19	10.4475	Pulegona	27.4842
20	10.6293	1-metil-3,3-pentamethylenediaziridino	1.3773
21	11.5807	Carvacrol	0.7873
22	11.8641	P-timol	4.2666
23	12.8113	Eucarvono	0.889
24	13.1115	Thimol acetato	0.3885
25	13.4583	1,4-benzenodiol, 2,5-dimethyl-	1.8622

26	13.6443	Fenol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, acetato	5.8354
27	13.8684	(-)-beta-bourboneno	0.4999
28	14.7522	Cariophilleno	3.5291
29	15.1243	Ciclohexanona, 5-metil-2-(1-metiletenil)-	0.6386
30	15.5472	1,4,7,-cicoundecatrieno, 1,5,9,9-tetrametil-, z,z,z-	0.5909
31	15.7586	Precoceno	0.2548
32	16.2365	Germacreno	2.3691
33	16.6424	Biciclogermacreno	4.7572
34	16.7989	Ciclohexano, 1-etenil-1-metil-2,4-bis(1-metiletenil)-	0.195
35	18.5115	Spathulenol	2.5333
36	18.6172	Caryofilleno oxido	0.5165
37	19.0739	Biciclo[6.1.0]non-1-eno	0.6832
38	19.8604	Isospathulenol	0.7539
39	21.5899	1h-cicloprop[e]azulen-7-ol,decahidro-1,1,7-trimetil-4-metileno-, [1ar-(1a.alpha.,4a.alpha.,7beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-	0.2122

**FUENTE:** Datos obtenidos en el laboratorio de cromatografía de gases UNSAAC, 2020.

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

“Los aceites esenciales son componentes heterogéneos de terpenos, sesquiterpenos, ácidos, ésteres, fenoles, lactonas; separables por métodos químicos o físicos, presentan la propiedad de actuar como agentes bacteriostáticos o antifúngicos”.<sup>(148)</sup> Se sabe además que los compuestos fenólicos muestran un amplio espectro de actividades farmacológicas, entre ellas, antioxidantes, antimutagénicas, antitumorales y anticarcinogénicas, al igual que lo flavonoides.<sup>(149)</sup> Por lo que, en la tabla N°16 se muestra los resultados mediante cromatografía de gases del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña) (Anexo 27), donde se observa que la pulegona es el componente mayoritario con un 27.48%, seguido de L-mentona con un 16.48%, Isomentona con un 9.21%, Fenol, 2-metil-5-(1-metiletil)-, acetato 5.83%, Biciclogermacreno 4.75 % y P-timol 4.26 %. A los que podemos atribuir tomando en cuenta lo descrito inicialmente las actividades esperadas en esta investigación (actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica).

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En comparación con el trabajo de **Moina Gallegos, 2015**, <sup>(42)</sup> el aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), elucidó 32 compuestos, cuyos componentes mayoritarios fueron la pulegona con 30,06 % y 25-Tras Mentona con 29.65%, resultados que permitieron en dicho estudio atribuir la actividad antibacteriana. Esta comparación nos permite demostrar que nuestra especie en estudio presenta metabolitos parecidos, atribuyendo como resultado final la actividad antioxidante, antibacteriana y antifúngica del aceite en cuestión. Se debe mencionar también que “los aceites esenciales suelen tener una composición química sumamente compleja, lo que muchas veces supera las posibilidades analíticas del método cromatográfico simple”. Por lo que cada especie puede tener variaciones, siendo ciertos factores ya sean de recolección, de región o procedimiento los que podrían influir en estos cambios, por ello se toman en cuenta siempre para poder hacer una comparación exhaustiva. <sup>(148)</sup>

Si hacemos una comparación con la investigación de *Minthostachys mollis* (muña) en el trabajo de investigación de **Cano et al., 2008** <sup>(150)</sup>, se encontró como componente mayoritario también a la pulegona (36,68%), seguido de mentona y limoneno.

#### 4.6 ANÁLISIS FITOQUÍMICO CUALITATIVO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)

En el análisis fitoquímico cualitativo del Extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León). Se encontraron los siguientes resultados.

**TABLA N°17: RESULTADOS DEL ANÁLISIS FITOQUÍMICO del Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)**

ANÁLISIS	REACTIVO	EXTRACTO
Flavonoides	Shinoda (vapores)	-
	NH <sub>3</sub>	-
Fenólicos	Fecl <sub>3</sub>	++
Taninos	Gelatina	+
Quinolonas	Koh %	-
Alcaloides	Draguendorf	+++
	Mayer	+++
Lactonas	Balget	+++
Azucares reductores	Fheling	++
Glicósidos	Fheling	++
Esteroides	Lieberman - bouchart	+++
Saponinas	Espuma	-

**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

DONDE:

- Abundante cantidad: +++
- Regular cantidad: ++
- Poca cantidad: +
- Ausente: -

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

El análisis fitoquímico es uno de los procedimientos más importantes, pues nos “permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta”, con ello “comprender la fisiología y bioquímica de los organismos que los producen y a lograr su mejor aprovechamiento con fines científicos, medicinales y económicos”. <sup>(128)</sup>

Los ensayos fitoquímicos aplicados al extracto etanólico al 96° de *Taraxacum Officinale* (Diente de León), se muestran en la tabla N°17, identificándose los metabolitos secundarios como alcaloides, lactonas y esteroides en abundante cantidad, mientras que fenólicos, azúcares reductores y glicósidos mantienen una cantidad regular, poca cantidad de taninos y por último flavonoides, quinolonas y saponinas ausentes.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados obtenidos, si hacemos comparación con los estudios de Montes Enciso, 2017 <sup>(151)</sup>, cuyos ensayos fitoquímicos aplicados al látex de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) fueron la obtención de metabolitos secundarios como fenoles y taninos en abundante cantidad, generando actividad antioxidante, antibacteriana y genotóxica a la planta, <sup>(152)</sup> ó con el estudio de **Echevarria, 2016** <sup>(153)</sup>, cuyo estudio fue realizado con extracto etanólicos al 70 % para 16 plantas entre ellas Diente de León, dando como resultado una mejor actividad antioxidante a la alcachofa con un 95 %, moringa 97.9 % borraja 95.8 % y diente de león 71.2 % y por último al estudio de **Rodríguez Pava, 2018**, <sup>(33)</sup> donde nos muestra que la abundante presencia de flavonoides, quinonas y triterpenos generó una actividad antibacteriana muy buena frente a “*Enterococcus faecium* resistente a vancomicina, *Streptococcus Pneumoniae*, *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Enterobacter Cloacae*, *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus*  $\beta$ -*lisina* y *Candida albicans*” para el extracto etanólico al 70% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León); nos dan a reconocer que el extracto de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) representado al 96 %, podría presentar una actividad antioxidante por la presencia regular de fenoles y taninos, pero no una actividad antibacteriana por la ausencia de flavonoides, esto se debe a que los flavonoides se sintetizan en la planta con fines bacteriológicos; a lo cual se le atribuiría su actividad microbiana por formar “complejos con proteínas extracelulares solubles”, así como también con la pared celular bacteriana, los flavonoides más lipofílicos probablemente sean los que quebrantan la membrana celular. Además, los flavonoides tienen la capacidad para neutralizar radicales libres. <sup>(40)</sup> Según estos resultados en el estudio mostrado la actividad antioxidante podría deberse a la presencia de fenoles y flavonoides y la actividad antibacteriana se debería a la

presencia de Flavonoides. Cabe indicar también que los “alcaloides, flavonoides, taninos y otros compuestos de naturaleza fenólica son responsables de la actividad antimicrobiana”. La actividad de los flavonoides desencadena en una lisis celular y los terpenoides y compuestos fenólicos porque son capaces de desestabilizar la integridad y permeabilidad de la membrana. <sup>(33)</sup>

#### **4.7 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR CAPTACIÓN DEL RADICAL DPPH PARA EL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA)**

##### **4.7.1 RESULTADOS DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO**

###### **4.7.1.1 CURVA DE CALIBRACIÓN DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO**

Los resultados de la recta de calibración del patrón ácido ascórbico se muestran en la siguiente tabla.

**TABLA N°18: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del patrón ácido ascórbico**

CONCENTRACIÓN	ABSORBANCIA 01	ABSORBANCIA 02	ABSORBANCIA 03	PROMEDIO	% DE CAPTACIÓN
0.5 mg/mL	0.029	0.028	0.029	0.0287	96.51 %
1 mg/mL	0.025	0.025	0.025	0.025	96.96 %
2 mg/mL	0.021	0.022	0.021	0.0213	97.41 %
<b>DPPH</b>	<b>0.822</b>				

**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

#### **RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

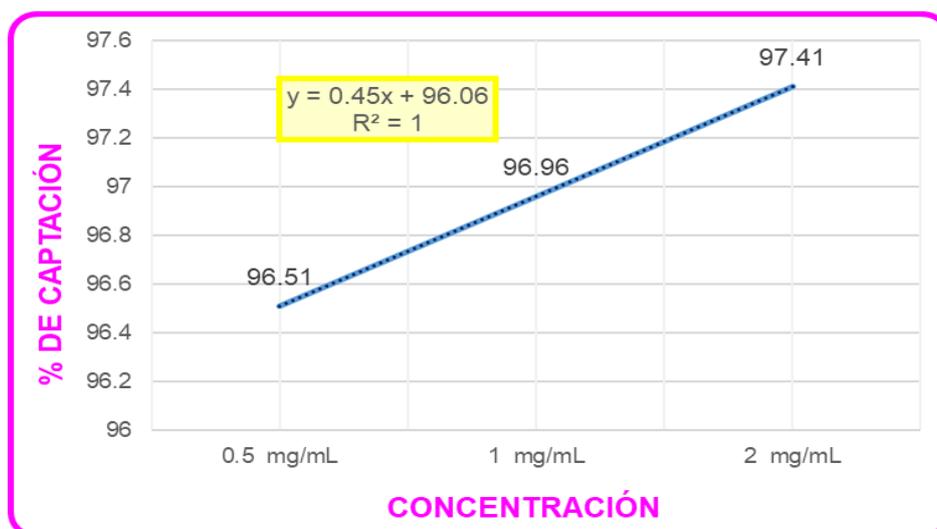
La tabla N°18 muestra las absorbancias de las pruebas realizadas por triplicado obtenidas por el espectrofotómetro de las concentraciones planteadas para el patrón, cuyo promedio de las mismas junto con el valor obtenido de dpph 0.822 nos servirán para calcular el porcentaje de captación de radical libre. Observando como resultado de dicha operación un 97.41% a una concentración de 2 mg/ml, 96.96% a 1 mg/ml y un 96.51% a 0.5 mg/ml, del cual se puede inferir que “a > concentración del patrón > porcentaje de actividad antioxidante”, por lo que se concluye que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según Llerena Mendoza, 2017 <sup>(129)</sup> en su investigación sobre “capacidad antioxidante in vitro de extractos hidroalcohólico de *agaricus campestris* (L.) Fries. (kallampa)” se utilizó ácido ascórbico como patrón a concentraciones parecidas a nuestro estudio, dando para 2 mg/ml un porcentaje de captación de 96.85 % y en su menor concentración a 0.25 mg/ml un 96.05 %.

Como podemos ver existe una similitud de resultados frente al % de captación de radicales libres, por lo que se deduce que el ácido ascórbico cumple con la función de patrón; ya que su actividad antioxidante es extremadamente superior.

**GRÁFICA N°1: Resultado de curva de calibración del patrón ácido ascórbico**



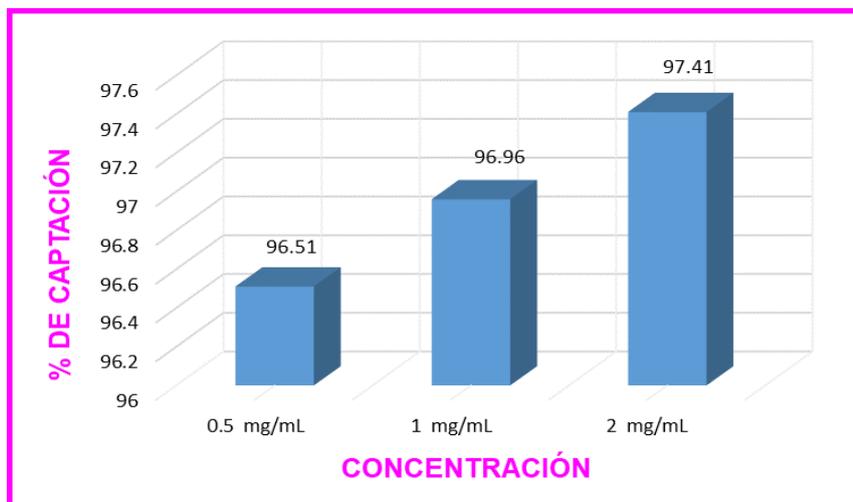
FUENTE: Elaboración propia, 2020

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la gráfica N°1 muestra la relación entre la concentración y el porcentaje de captación de radical libre dpph, como curva de calibración con ácido ascórbico, donde se obtiene el valor del coeficiente de determinación ( $r^2$ ) = 1 que indica la proporción de variación de la variable dependiente que en este caso sería el porcentaje de captación frente a la variable independiente (concentración), dando a entender que la fuerza de asociación entre ambas variables es del 100%, osea que la actividad antioxidante del patrón depende estrictamente de la concentración del mismo.

#### 4.7.1.2 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICAL DPPH DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO

GRÁFICA N°2: Porcentaje de captación del patrón ácido ascórbico



FUENTE: Elaboración Propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

El gráfico N°2 muestra el porcentaje de captación de radical libre DPPH por el ácido ascórbico, observándose un 96.51% a una concentración de 0.5 mg/mL, 96.96 % a 1 mg/mL y un 97.41% a 2 mg/mL del cual se observa que a medida que a > concentración del patrón > el porcentaje de actividad antioxidante del cual se puede concluir que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

#### 4.7.1.3 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL DE LA CURVA PATRÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Los resultados del análisis de varianza para la validación del modelo de regresión lineal de la curva del patrón ácido ascórbico se muestran en la siguiente tabla.

**TABLA N°19: Resultado de la actividad antioxidante del patrón ácido ascórbico**

CONCENTRACIÓN	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 01	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 02	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 03	PROMEDIO
<b>0,5 mg/mL</b>	96.47 %	96.59 %	96.47 %	96.51 %
<b>1 mg/mL</b>	96.96 %	96.96 %	96.96 %	96.96 %
<b>2 mg/mL</b>	97.45 %	97.32 %	97.45 %	97.41 %

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

En la tabla N°19 se muestran los resultados en porcentaje de las pruebas realizadas por triplicado obtenidos a partir de las absorbancias correspondientes, esto con el fin de realizar el análisis estadístico anova de un factor de medidas independientes para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas.

**TABLA N°20: Análisis de varianza del patrón ácido ascórbico  
ANOVA DE UN FACTOR**

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
<b>ENTRE GRUPOS</b>	1.206	2	0.603	173.390	0.000
<b>DENTRO DE GRUPOS</b>	0.021	6	0.003		
<b>TOTAL</b>	1.227	8			

FUENTE: Valores brindados por el programa estadístico spss 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Al realizar el análisis estadístico ANOVA de un Factor, se debe tener en cuenta los valores de la significancia, donde:

- Sig  $\leq$  0.05 nos indican que existen diferencias estadísticamente significativas
- Sig  $>$  0.05 nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Tomando en cuenta esa acotación en la tabla N°20 se puede observar que la significancia en el análisis de varianza ANOVA de un Factor del patrón Ácido ascórbico es igual a 0.000, lo que nos indica que existen diferencias

estadísticamente significativas. Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Duncan para determinar entre que grupos existen dichas diferencias.

**TABLA N°41: Prueba Post Hoc de Duncan para la Actividad antioxidante del patrón Ácido ascórbico**

CONCENTRACIÓN ÁCIDO ASCÓRBICO	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
0.5 mg/ml	3	96.5100		
1 mg/ml	3		96.9600	
2 mg/ml	3			97.4067
Sig.		1.000	1.000	1.000

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico spss 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°21 se realizó la prueba de Post Hoc de Duncan que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los porcentajes de actividad de captación de radicales obteniéndose en este caso 3 subconjuntos de concentraciones para el patrón Ácido ascórbico, cada uno con una significancia  $> 0.05$  (no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada subconjunto), lo que indica que cada grupo mantiene un comportamiento distinto.

#### 4.7.2 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)

##### 4.7.2.1 CURVA DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)

**TABLA N°52: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)**

CONCENTRACIÓN	ABSORBANCIA 01	ABSORBANCIA 02	ABSORBANCIA 03	PROMEDIO	% DE CAPTACIÓN
0.125 mg/mL	0.611	0.611	0.611	0.611	25.49%
0.25 mg/mL	0.565	0.565	0.565	0.565	31.10%
0.5 mg/mL	0.515	0.515	0.515	0.515	37.20%
1 mg/mL	0.414	0.414	0.413	0.4137	49.55%
2 mg/mL	0.378	0.378	0.377	0.3777	53.94%
4 mg/mL	0.203	0.203	0.203	0.203	75.24%
<b>DPPH</b>	<b>0.820</b>				

FUENTE: Elaboración propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°22 muestra las absorbancias de las pruebas realizadas por triplicado obtenidas por el espectrofotómetro de las concentraciones planteadas para el “Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)”, cuyo promedio de las mismas junto con el valor obtenido de dpph 0.820 nos sirvió para calcular el porcentaje de captación de radical libre. Observando como resultado de dicha operación un 75.24% a una concentración de 4 mg/mL, 53.94% a 2 mg/mL, 49.55% a 1 mg/mL, 37.20% a 0.5 mg/mL, 31.10% a 0.25 mg/mL y 25.49% a 0.125 mg/mL de los cuales se puede inferir que a > concentración del patrón > el porcentaje de actividad antioxidante, por lo que se concluye que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

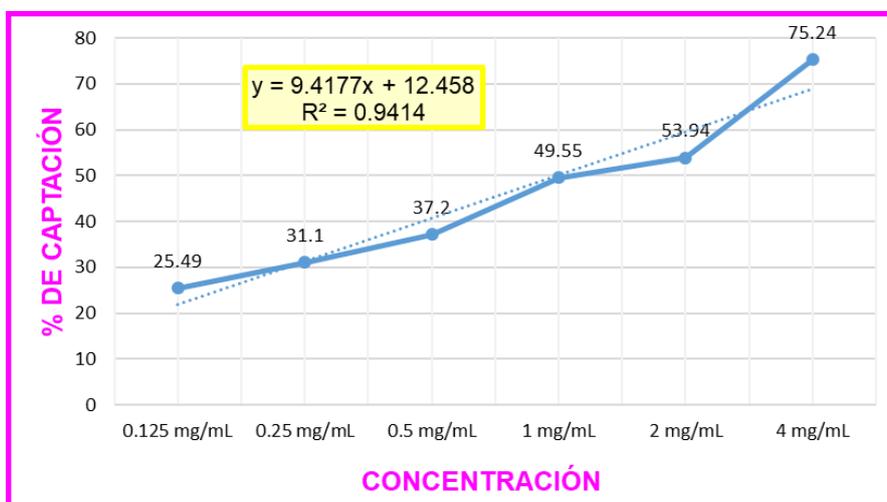
#### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Vicharra Morales, 2017** <sup>(154)</sup> en su investigación denominada “Polifenoles y actividad antioxidante del extracto alcohólico de *Taraxacum officinale*” se logra demostrar que la ubicación de recolección de una planta en estudio puede generar distintos resultados, tal como es el caso de esta investigación pues la planta en estudio fue recolectada en el distrito del Tambo, en la provincia de

Huancayo, en Junín, dato sumamente importante pues nos permite comparar sus resultados fitoquímicos con los nuestros, esto debido a que el Diente de león obtenido en este distrito presenta una evidencia alta de flavonoides y fenoles, lo que generó en este estudio un porcentaje de captación de radicales libres altos, dando como resultado para 200 µg/mL un 87.707 % de captación a diferencia nuestra donde la planta en estudio presentó tan solo fenoles en regular cantidad generando un actividad antioxidante mediana donde para 4 mg/mL demostró obtener un porcentaje de captación de 75.24 %.

Si tomamos en cuenta a **Echevarria, 2016** <sup>(153)</sup> en la investigación titulada “Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales” se logró demostrar que “los extractos hidroalcohólicos al 70% de *C. colymus* (Alcachofa) 95,7%, *M. oleífera* (Moringa) 97,9% y *B. officinalis* (Borraja) 96,3% mostrando mayor capacidad antioxidante; seguidos por *P. carpunya* (Guaviduca) 95,8%, *P. hysterochorus* (Escoba amarga) 88,4 % y *T. officinale* (Diente de león) con 71,2% a 100 ug/mL. De lo anteriormente referido, se puede observar que algunos de estos extractos superaron al control positivo, ácido ascórbico (vitamina c) que presentó 90,5% a la misma concentración”.

**GRÁFICA N°3: Resultado de curva de captación de radicales libres del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)**



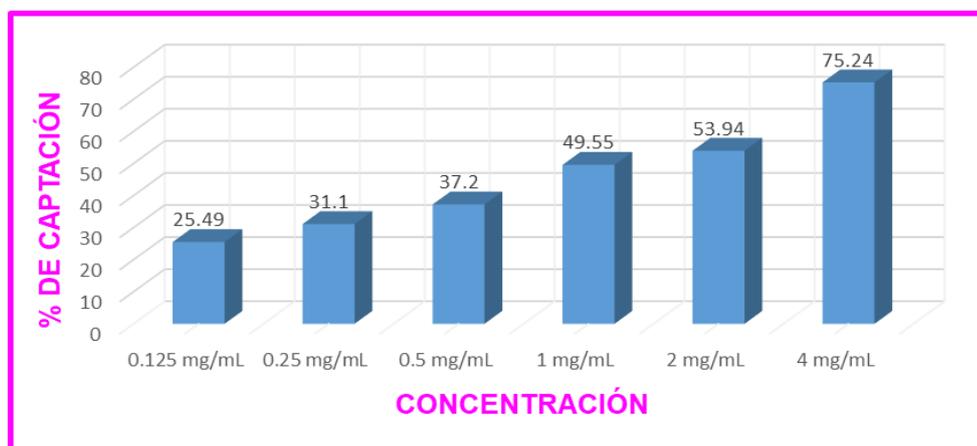
**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

## ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

En la gráfica N°3 muestra la relación entre la concentración y el porcentaje de captación de radical libre dpph, como curva de captación de radicales libres del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) , donde se obtiene el valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) = 0.9414 que indica la proporción de variación de la variable dependiente que en este caso sería el porcentaje de captación frente a la variable independiente (concentración), dando a entender que la fuerza de asociación entre ambas variables es del 94.14%, osea que la actividad antioxidante del patrón depende estrictamente de la concentración del mismo.

### 4.7.2.2 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICAL DPPH DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)

**GRÁFICA N°4: Porcentaje de captación del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león)**



**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

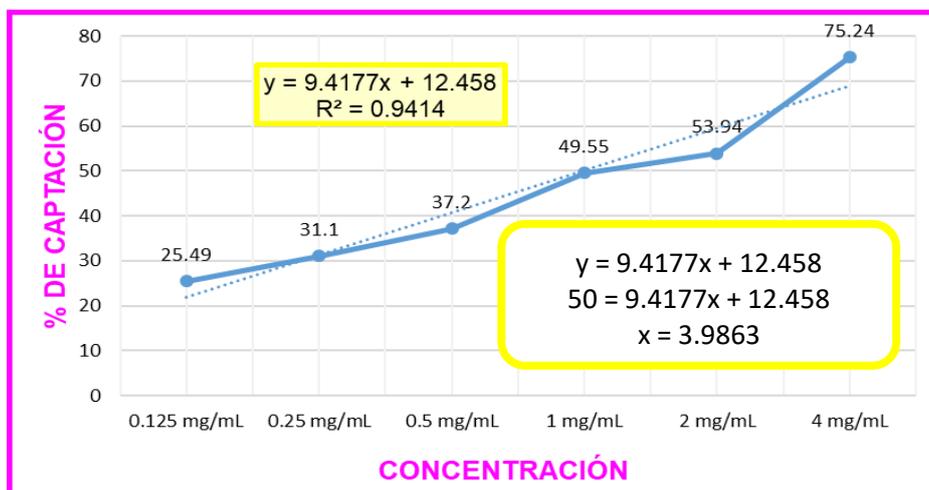
### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

El gráfico N°4 muestra el porcentaje de captación de radical libre DPPH por el Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum Officinale* (Diente de León), observándose un 75.24% a una concentración de 4 mg/mL, 53.94% a 2 mg/mL, 49.55% a 1 mg/mL, 37.20% a 0.5 mg/mL, 31.10% a 0.25 mg/mL y 25.49% a 0.125 mg/mL del cual se puede observar que a > concentración del extracto > el

porcentaje de actividad antioxidante del cual se puede concluir que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

#### 4.7.2.3 VALOR DE CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN 50 (IC50) DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *TARAXACUM OFFICINALE* (DIENTE DE LEÓN)

GRÁFICA N°5: Resultado del valor de concentración de inhibición del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)



FUENTE: Elaboración propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En el gráfico N°5 se observa el valor de IC50 del Extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum Officinale* (Diente de León) cuyo resultado fue 3.9863, dato que está representado entre la concentración 0.5 mg/mL y 1 mg/mL, es allí donde estaría la concentración a la que el extracto llegó a producir el 50 % de captación de radicales libres en el ensayo “in vitro”. Considerando que según **Durán Cascamayta, 2018** <sup>(41)</sup> el valor de IC50 es el número que se emplea para cuantificar la potencia de una sustancia, potencia que está relacionada con la concentración que se necesita de un fármaco o compuesto para producir una respuesta entonces IC50 es la concentración que produce 50% de la captación de DPPH, por lo que mientras más baja sea su valor, más promisorio será su utilidad y aplicabilidad.

#### 4.7.2.4 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL DE LA CURVA DE EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN)

Los resultados del análisis de varianza para la validación del modelo de regresión lineal de la curva del Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León).

**TABLA N°63: Resultado de la actividad antioxidante del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)**

CONCENTRACIÓN	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 01	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 02	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 03	PROMEDIO
0.125 mg/mL	25.49%	25.49%	25.49%	25.49%
0.25 mg/mL	31.10%	31.10%	31.10%	31.10%
0.5 mg/mL	37.20%	37.20%	37.20%	37.20%
1 mg/mL	49.51%	49.51%	49.63%	49.55%
2 mg/mL	53.90%	53.90%	54.02%	53.94%
4 mg/mL	75.24%	75.24%	75.24%	75.24%

**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°23 se muestran los resultados en porcentaje de las pruebas realizadas por triplicado obtenidos a partir de las absorbancias correspondientes, esto con el fin de realizar el análisis estadístico Anova de un factor de medidas independientes para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas.

**TABLA N°74: Análisis de varianza del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (Diente de León)  
ANOVA DE UN FACTOR**

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4946.146	5	989.229	618268.275	0.000
Dentro de grupos	0.019	12	0.002		
Total	4946.165	17			

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico spss 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Al realizar el análisis estadístico ANOVA de un Factor, se debe tener en cuenta los valores de la significancia, donde:

- Sig  $\leq$  0.05 nos indican que existen diferencias estadísticamente significativas
- Sig  $>$  0.05 nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Tomando en cuenta esa acotación en la tabla N°24 se puede observar que la significancia en el análisis de varianza ANOVA de un Factor del Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León) es igual a 0.000, lo que nos indica que existen diferencias estadísticamente significativas. Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Duncan para determinar entre que grupos existen dichas diferencias.

**TABLA N°25: Prueba Post Hoc de Duncan para la Actividad antioxidante del Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León)**

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
<b>0.125 mg/mL</b>	3	25.4900					
<b>0.25 mg/mL</b>	3		31.1000				
<b>0.5 mg/mL</b>	3			37.2000			
<b>1 mg/mL</b>	3				49.5500		
<b>2 mg/mL</b>	3					53.9400	
<b>4 mg/mL</b>	3						75.2400
<b>Sig.</b>		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°25 se realizó la prueba de Post Hoc de Duncan que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los porcentajes de actividad de captación de radicales obteniéndose en este caso 6 subconjuntos de concentraciones para el Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de León), cada uno con una significancia  $>$  0.05 (no existen diferencias estadísticamente

significativas entre los valores de cada subconjunto), lo que indica que cada grupo mantiene un comportamiento distinto.

#### 4.7.3 RESULTADOS DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

##### 4.7.3.1 CURVA DE CAPTACIÓN DE RADICALES LIBRES DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

**TABLA N°26: Resultado de absorbancia y porcentaje de captación del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)**

CONCENTRACIÓN	ABSORBANCIA 01	ABSORBANCIA 02	ABSORBANCIA 03	PROMEDIO	% DE CAPTACIÓN
0.5 mg/mL	0.583	0.583	0.583	0.583	29.08%
1 mg/mL	0.567	0.567	0.567	0.567	31.02%
2 mg/mL	0.522	0.522	0.522	0.522	36.50%
4 mg/mL	0.477	0.477	0.477	0.477	41.97%
8 mg/mL	0.390	0.390	0.389	0.390	52.60%
16 mg/mL	0.234	0.233	0.233	0.233	71.61%
32 mg/mL	0.218	0.217	0.216	0.217	73.60%
DPPH	0.822				

**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

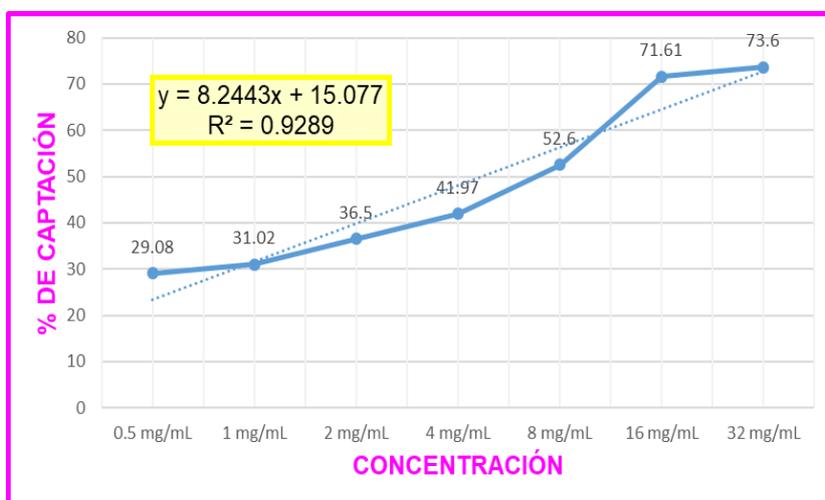
La tabla N°26 muestra las absorbancias de las pruebas realizadas por triplicado obtenidas por el espectrofotómetro de las concentraciones planteadas para el Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), cuyo promedio de las mismas junto con el valor obtenido de dpph 0.822 nos servirán para calcular el porcentaje de captación de radical libre. Observando como resultado de dicha operación un 73.60% a una concentración de 32 mg/mL, 71.61% a 16 mg/mL, 52.60% a 8 mg/mL, 41.97% a 4 mg/mL, 36.50% a 2 mg/mL, 31.02% a 1 mg/mL y 29.08% a 0.5 mg/mL de los cuales se puede inferir que a > concentración del patrón > será el porcentaje de actividad antioxidante, por lo que se concluye que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

#### ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el estudio de **Castañeda, 2008** <sup>(155)</sup> denominado "Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas", se logró demostrar la

importancia del tipo de extracto que se utiliza para poder obtener la actividad que necesitamos, pues en este estudio se pudo demostrar que las siete plantas tuvieron actividad antioxidante, pero cada una representada con un tipo de extracción diferente por lo que para “el extracto etanólico de la corteza de canela se obtuvo un 97.59 % de captación a 1 µg/mL, extracto metanólico de hojas de Lagarto caspi 99.76 % a 50 µg/mL, extracto metanólico del fruto de Camu camu 98.09 % a 50 µg/mL, extracto acuoso de las hojas de Muña 92.41 % a 50 µg/mL, extracto metanólico de las hojas de Hiporuro 100.57 % a 100 µg/mL, todas ellas en comparación al patrón ácido ascórbico que presentó una actividad antioxidante de 92.82 %”.

**GRÁFICA N°6: Resultado de curva de captación de radicales libres del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua muña)**



**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la gráfica N°6 muestra la relación entre la concentración y el porcentaje de captación de radical libre dpph, como curva de captación de radicales libres del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña), donde se obtiene el valor del coeficiente de determinación ( $R^2$ ) = 0.9289 que indica la proporción de variación de la variable dependiente que en este caso sería el porcentaje de captación frente a la variable independiente (concentración), dando a entender que la fuerza de asociación entre ambas variables es del 92.89%, osea que la

actividad antioxidante del patrón depende estrictamente de la concentración del mismo.

#### 4.7.3.2 PORCENTAJE DE ACTIVIDAD DE CAPTACIÓN DE RADICAL DPPH DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys Spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

**GRÁFICA N°7: PORCENTAJE DE CAPTACIÓN DEL Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)**



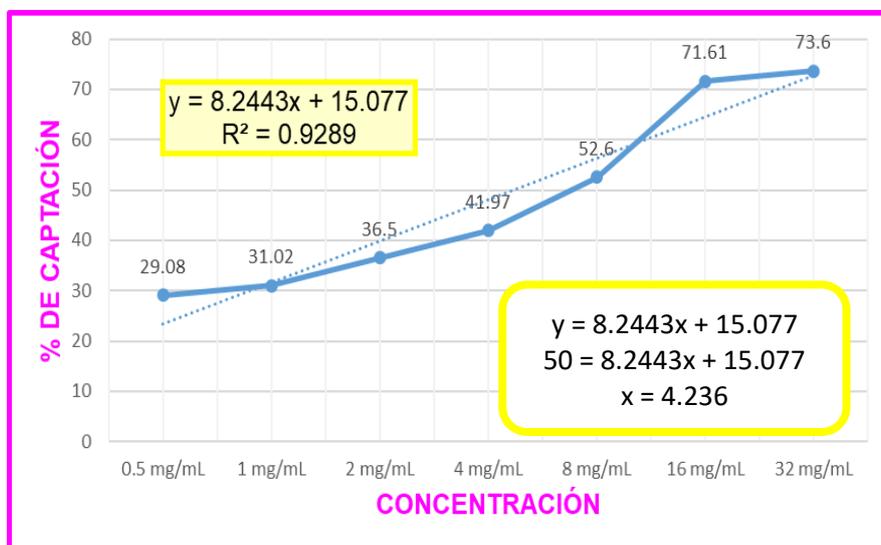
FUENTE: Elaboración Propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

El gráfico N°7 muestra el porcentaje de captación de radical libre DPPH por el Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), observándose un 73.60% a una concentración de 32 mg/mL, 71.61% a 16 mg/mL, 52.60% a 8 mg/mL, 41.97% a 4 mg/mL, 36.50% a 2 mg/mL, 31.02% a 1 mg/mL y 29.08% a 0.5 mg/mL del cual se puede observar que a > concentración del extracto > el porcentaje de actividad antioxidante del cual se puede concluir que a mayor concentración mayor capacidad antioxidante.

### 4.7.3.3 VALOR DE CONCENTRACIÓN DE INHIBICIÓN 50 (IC50) DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys Spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

**GRÁFICA N°8: Resultado del valor de concentración de inhibición del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)**



**FUENTE:** Elaboración propia, 2020

### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En el gráfico N°8 se observa el valor de IC50 del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua Muña), cuyo resultado fue de 4.236, dato que está representado entre la concentración 4 mg/mL y 8 mg/mL, es allí donde estaría la concentración a la que el extracto llegó dato que representa la concentración a la que el extracto llegó a producir el 50 % de captación de radicales libres en el ensayo "in vitro". Considerando que según Durán Cascamayta, 2018 <sup>(41)</sup> el valor de IC50 es el número que se emplea para cuantificar la potencia de una sustancia, potencia que está relacionada con la concentración que se necesita de un fármaco o compuesto para producir una respuesta entonces IC50 es la concentración que produce 50% de la captación de DPPH, por lo que mientras más baja sea su valor, más promisorio será su utilidad y aplicabilidad. <sup>(41)</sup>

#### 4.7.3.4 ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VALIDACIÓN DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL DE LA CURVA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA)

Los resultados del análisis de varianza para la validación del modelo de regresión lineal de la curva del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)

**TABLA N°27: Resultado de la actividad antioxidante del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)**

CONCENTRACIÓN	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 01	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 02	PORCENTAJE DE CAPTACIÓN 03	PROMEDIO
0.5 mg/mL	29.10%	29.10%	29.10%	29.10%
1 mg/mL	31.02%	31.02%	31.02%	31.02%
2 mg/mL	36.50%	36.50%	36.50%	36.50%
4 mg/mL	41.97%	41.97%	41.97%	41.97%
8 mg/mL	52.55%	52.55%	52.70%	52.60%
16 mg/mL	71.53%	71.65%	71.65%	71.61%
32 mg/mL	73.48%	73.60%	73.72%	73.60%

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°27 se muestran los resultados en porcentaje de las pruebas realizadas por triplicado obtenidos a partir de las absorbancias correspondientes, esto con el fin de realizar el análisis estadístico Anova de un factor de medidas independientes para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas.

**TABLA N°28: Análisis de varianza del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)  
ANOVA DE UN FACTOR**

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	6144.212	6	1024.035	268473.667	0.000
Dentro de grupos	0.053	14	0.004		
Total	6144.265	20			

FUENTE: Valores brindados por el programa estadístico spss 25

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

Al realizar el análisis estadístico ANOVA de un Factor, se debe tener en cuenta los valores de la significancia, donde:

- Sig  $\leq 0.05$  nos indican que existen diferencias estadísticamente significativas.
- Sig  $> 0.05$  nos indican que no existen diferencias estadísticamente significativas.

Tomando en cuenta esa acotación en la tabla N°28 se puede observar que la significancia en el análisis de varianza ANOVA de un Factor del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña) es igual a 0.000, lo que nos indica que existen diferencias estadísticamente significativas. Por tal motivo se realizó la prueba Post Hoc de Duncan para determinar entre que grupos existen dichas diferencias.

**TABLA N°298: Prueba Post Hoc de Duncan para la Actividad antioxidante del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)**

Concentraciones	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
<b>0,5 mg/ml</b>	3	29.1000						
<b>1 mg/ml</b>	3		31.0200					
<b>2 mg/ml</b>	3			36.5000				
<b>4 mg/ml</b>	3				41.9700			
<b>8 mg/ml</b>	3					52.6000		
<b>16 mg/ml</b>	3						71.6100	
<b>32 mg/ml</b>	3							73.6000
<b>Sig.</b>		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico spss 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°29 se realizó la prueba de Post Hoc de Duncan que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los porcentajes de actividad de captación de radicales obteniéndose en este caso 6 subconjuntos de concentraciones para el Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña), cada uno con una significancia  $> 0.05$  (no existen diferencias estadísticamente significativas entre los valores de cada subconjunto), lo que indica que cada grupo mantiene un comportamiento distinto.

**4.8 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 25922 (*E. COLI*), 27853 (*Pseudomona aeruginosa*), 90028 (*Cándida albicans*) Y 28188 (*Trichopytom rubrum*)**

**4.8.1 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) SOBRE CEPAS ATCC 25922 DE *Escherichia coli*, Y 27853 DE *Pseudomona aeruginosa*.**

**TABLA N°30: Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*, Y 27853 DE *Pseudomona aeruginosa***

Nº de disco	Concentración del extracto	Diámetros de halos de inhibición (mm) en cepas ATCC de <i>Escherichia coli</i> y <i>Pseudomona aeruginosa</i>			
		IG	IIG	IIIG	Promedio
1	4 µG (Ciprofloxacino)	0.00	0.00	0.00	0.00
2	400 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
3	367 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
4	333 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
5	300 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
6	267 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
7	233 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
8	200 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
9	133 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
10	67 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
11	33 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
12	16 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

**DONDE:**

- IG: Primer grupo de halos
- IIG: Segundo grupo de halos
- IIIG: Tercer grupo de halos

**RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

La tabla N°30 nos muestra los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) sobre cepas ATCC 25922 de

*Escherichia coli*, y 27853 de *Pseudomona aeruginosa* obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

De la tabla se deduce que el extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) no tiene ningun efecto antibacteriano sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*, y 27853 de *Pseudomona aeruginosa*.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Rodríguez, 2018** <sup>(156)</sup> en su trabajo de investigación “Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia”, reportó que los tallos de *T. officinale*, era el más eficaz frente a las cepas usadas, además atribuyó dicha actividad a la presencia de flavonoides, quinonas y triterpenos dado por el análisis fitoquímico correspondiente.

Por otro lado, según **Azuero Andrea, 2016** <sup>(157)</sup> en la investigación sobre el “Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador”, donde se midió la actividad sobre “*Staphylococcus aureus*”, “*Escherichia coli*”, “*P. aeruginosa*” y “*Candida albicans*”. Demostrando que: “*T. officinale* presentó un efecto antibacteriano alto contra *E. coli*, pero tuvo menor efecto inhibitorio contra *C. albicans*.”

Si tomamos en cuenta el estudio dado por **Reaño Ortega, 2014** <sup>(37)</sup> en su trabajo de investigación “Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia tiphylla* (Cedrón), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Mentha spicata* (Hierba buena), *Portulaca oleraceae* (Verdolaga) y *Taraxacum officinale* (Diente de león)” mostró que a partir del extracto hidoalcohólico (70% etanol + 30% agua) de las plantas en estudio sólo *Aloysia tiphylla* (Cedrón), *Rosmarinus officinalis* (Romero) y *Mentha spicata* (Hierba buena) mostraron actividad frente a *S.aureus*, más no sobre *E. coli*, ni *salmonella enteriditis*, en tanto *Portulaca oleraceae* (Verdolaga) y *Taraxacum officinale* (Diente de león) no tuvieron efecto alguno sobre ninguna cepa. Atribuye también que la falta de actividad puede deberse al corto tiempo de maceración que tuvo sus extractos.

**4.8.2 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) SOBRE CEPAS ATCC 90028 DE *Cándida albicans* Y 28188 DE *Trichopytom rubrum***

**TABLA N°31: Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (DIENTE DE LEÓN) SOBRE CEPAS ATCC 90028 DE *Cándida albicans* Y 28188 DE *Trichopytom rubrum***

Nº de disco	Concentración del extracto	Diámetros de halos de inhibición (mm) en cepas ATCC de <i>Cándida albicans</i> y <i>Trichopytom rubrum</i>			
		IG	IIG	IIIG	Promedio
1	Fluconazol 25 µg (cándida) Terbinafina 30 µg (trichopytom)	0.00	0.00	0.00	0.00
2	400 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
3	367 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
4	333 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
5	300 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
6	267 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
7	233 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
8	200 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
9	133 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
10	67 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
11	33 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00
12	16 mg/mL	0.00	0.00	0.00	0.00

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

**DONDE:**

- IG: Primer grupo de halos
- IIG: Segundo grupo de halos
- IIIG: Tercer grupo de halos

**RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

La tabla N°31 nos muestra los halos de inhibición del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans* Y 28188 de *Trichopytom rubrum*, obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

De la tabla se deduce que el extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) no tiene ningun efecto antifúngico sobre cepas ATCC 90028 DE *Cándida albicans* Y 28188 de *Trichopytom rubrum*.

## **ANÁLISIS Y DISCUSIÓN**

En la región no se cuenta con antecedentes de nuestra especie en estudio, frente a los hongos mencionados, por lo que no es preciso una comparación, pero atribuimos nuestros resultados a la identificación previa de metabolitos presentes en nuestra planta; ya que como vimos anteriormente según investigaciones planteadas, la presencia de flavonoides, fenoles y taninos podrian atribuir una actividad antibacteriana y con ello una actividad antifúngica, como sucedió con investigaciones cuyas especies en estudio determinaban la presencia de estos metabolitos atribuyendo así una actividad frente a los hongos propuestos. Cabe mencionar que además esta ausencia de metabolitos deseados puede deberse a diversos factores, como el tipo de cultivo que tuvo la planta, la altitud, la temperatura ó incluso el tiempo de recolección, condiciones que podrian determinar la concentración de minerales ó micronutrientes, lo que explicaría la ausencia de halos de inhibición en los diferentes estudios.

#### 4.8.3 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 25922 DE *Escherichia coli*

**TABLA N°92: Resultado de los diámetros de los halos de inhibición del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli***

N° de disco	Concentración del extracto	Diámetros de halos de inhibición (mm) en cepas ATCC de <i>E. coli</i>			
		IG	IIG	IIIG	Promedio
1	Ciprofloxacino 4 µg	27.82 mm	28.73 mm	28.36 mm	28.30 mm
2	100%	9.96 mm	9.28 mm	9.29 mm	9.51 mm
3	90%	8.79 mm	8.87 mm	9.08 mm	8.91 mm
4	80%	8.16 mm	7.90 mm	7.90 mm	7.99 mm
5	70%	7.10 mm	7.33 mm	7.42 mm	7.28 mm
6	60%	7.39 mm	7.08 mm	6.96 mm	7.14 mm
7	50%	6.89 mm	6.80 mm	6.79 mm	6.82 mm
8	40%	6.48 mm	6.71 mm	7.01 mm	6.73 mm
9	30%	6.26 mm	6.80 mm	6.48 mm	6.51 mm
10	20%	0.00	0.00	0.00	0.00
11	10%	0.00	0.00	0.00	0.00
12	5%	0.00	0.00	0.00	0.00

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

#### **DONDE:**

- IG: Primer grupo de halos
- IIG: Segundo grupo de halos
- IIIG: Tercer grupo de halos

#### **RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

La tabla N°32 nos muestra los halos de inhibición del “aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)” sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli* obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

En dicha tabla se puede observar que el patrón Ciprofloxacino 4ug obtuvo 28.30 mm de halo de inhibición, siendo este el de mayor medida, seguido por el aceite al 100% con un promedio de 9.51 mm, se puede observar también que las concentraciones al 5, 10 y 20 % del aceite esencial no mostraron ningún halo de inhibición.

De aquí determinamos que el “Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua Muña) sobre la cepa ATCC 25922 de *Escherichia Coli*” presenta un halo mínimo de 6.51 mm al 30%.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

En el estudio presentado por **Torrenegra Alarcón, 2016** <sup>(158)</sup> con el tema “Composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*”, se logró determinar que *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *Escherichia coli*, resultaron susceptibles a la acción antibacteriana del aceite esencial de muña, lo cual convierte a dicho aceite promisorio para el control de componentes bacterianos, considerando que en esta especie se tuvo como componente mayoritario carvacrol.

En la región no se tiene información concreta sobre la especie en estudio, de tal manera que se tomó como primer punto de comparación una planta del mismo género pero de distinta especie, por lo que, consideramos que los resultados variados pueden deberse a lo sugerido ya que haciendo una comparación con la composición química nuestra especie tiene tan solo 0.7873 % de carvacrol, lo cual puede ser un factor indispensable para que nuestro aceite tenga tan baja actividad frente a *Escherichia coli*.

### 4.8.4 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q’ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 25922 de *Escherichia coli* FRENTE AL PATRÓN CIPROFLOXACINO.

**TABLA N°33: Prueba de susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua Muña) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli***

Fármacos	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Ciprofloxacino 4 µg (manual INS)	≤15	16-20	21≥
Ciprofloxacino 4 µg	-	-	28.3 mm
Aceite al 100%	9.51 mm	-	-

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 33 muestra los resultados de los halos de inhibición obtenidos del fármaco patrón (Ciprofloxacino 4 µg) y del aceite de muña al 100%, sobre la cepa ATCC de *Escherichia coli*, dando como resultado un diámetro de 28.3 mm y 9.51mm respectivamente, de acuerdo a estos resultados la cepa ATCC de *Escherichia coli* es resistente Al aceites esencial de muña al 100% y es sensible al patrón Ciprofloxacino 4 µg, todo esto en comparación a los datos elaborados de patrones estándar de halo de inhibición para *Escherichia coli* del “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión, 2012”.<sup>(133)</sup>

**TABLA N°34: Resultados descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia Coli***

	N	Media	Desv. Estandar	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Ciprofloxacino 4 µG	3	28.3033	0.45764	0.26422	27.1665	29.4402	27.82	28.73
100%	3	9.5100	0.38974	0.22502	8.5418	10.4782	9.28	9.96
90%	3	8.9133	0.14978	0.08647	8.5413	9.2854	8.79	9.08
80%	3	7.9867	0.15011	0.08667	7.6138	8.3596	7.90	8.16
70%	3	7.2833	0.16503	0.09528	6.8734	7.6933	7.10	7.42
60%	3	7.1433	0.22189	0.12811	6.5921	7.6945	6.96	7.39
50%	3	6.8267	0.05508	0.03180	6.6899	6.9635	6.79	6.89
40%	3	6.7333	0.26577	0.15344	6.0731	7.3935	6.48	7.01
30%	3	6.5133	0.27154	0.15677	5.8388	7.1879	6.26	6.80
Total	27	9.9126	6.70198	1.28980	7.2614	12.5638	6.26	28.73

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°34 nos muestra los resultados descriptivos de los halos de inhibición del “aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*” obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado. Se puede observar que la desviación estandar de todos los grupos posee valores muy bajos, siendo este parámetro una medida de dispersión nos indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto se traduce

en que al realizar las pruebas por triplicado se obtuvo resultados similares intra grupos.

**TABLA N°3510: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli***

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1166.570	8	145.821	2082.609	0.000
Dentro de grupos	1.260	18	0.070		
Total	1167.830	26			

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°35 nos muestra los resultados del test ANOVA “análisis de la varianza” de los “Halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli*”.

Se observa que la significancia posee un valor igual a cero, con lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos, para determinar entre que grupos se encuentran dichas diferencias se procede a realizar un Test Post Hoc de Duncan.

**TABLA N°36: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli***

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05						
		1	2	3	4	5	6	7
30%	3	6.5133						
40%	3	6.7333	6.7333					
50%	3	6.8267	6.8267	6.8267				
60%	3		7.1433	7.1433				
70%	3			7.2833				
80%	3				7.9867			
90%	3					8.9133		
100%	3						9.5100	
Ciprofloxacino 4 µG	3							28.3033
Sig.		0.186	0.088	0.059	1.000	1.000	1.000	1.000

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°36 se observa los resultados de la prueba Post Hoc que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los Halos de inhibición obteniéndose en este caso 7 subconjuntos.

Cada subconjunto agrupa a los Halos de inhibición que no poseen diferencias estadísticamente significativas con una significancia mayor a 0.05, así podemos observar que ninguna de las concentraciones de Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) posee una actividad similar o parecida a la del Patrón Ciprofloxacino 4 µg.

**4.8.5 ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 27853 DE *Pseudomona aeruginosa***

**TABLA N°37: Resultado de los diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa***

Nº de disco	Concentración del extracto	Diámetros de halos de inhibición (mm) en cepas ATCC de <i>Pseudomona aeruginosa</i>			
		IG	IIG	IIIG	Promedio
1	4 µg (Ciprofloxacino)	32.69 mm	34.39 mm	33.36 mm	33.48 mm
2	100%	29.52 mm	30.61 mm	30.10 mm	30.08 mm
3	90%	28.65 mm	30.20 mm	28.75 mm	29.20 mm
4	80%	23.73 mm	23.66 mm	24.64 mm	24.81 mm
5	70%	23.45 mm	26.51 mm	23.04 mm	24.33 mm
6	60%	24.30 mm	23.02 mm	22.34 mm	23.22 mm
7	50%	20.83 mm	22.42 mm	22.77 mm	22.01 mm
8	40%	23.03 mm	21.74 mm	19.45 mm	21.41 mm
9	30%	19.41 mm	16.86 mm	21.68 mm	19.32 mm
10	20%	14.99 mm	14.94 mm	16.70 mm	15.54 mm
11	10%	11.89 mm	12.35 mm	12.67 mm	12.30 mm
12	5%	8.53 mm	8.28 mm	8.65 mm	8.49 mm

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

**DONDE:**

- IG: Primer grupo de halos
- IIG: Segundo grupo de halos
- IIIG: Tercer grupo de halos

**RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

La tabla N°37 nos muestra los “halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*” obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

En dicha tabla se puede observar que el patrón Ciprofloxacino 4ug obtuvo un halo de inhibición de 33.48 mm, siendo este el de mayor medida, seguido por el aceite al 100% con un halo de inhibición de 30.08 mm, se puede observar que todas las concentraciones del Aceite esencial poseen marcada actividad antibacteriana sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*.

De aquí determinamos que el “Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q’eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*” presentó un halo de inhibición mínimo de 8.49 mm a una concentración del 5%.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Según **Carhuapoma Y. Mario, et. al, 2009**, <sup>(159)</sup> en su trabajo de investigación titulado “Actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys Mollis Griseb* (Ruyaq muña)” se logró demostrar que las hojas recolectadas presentan una elevada actividad frente a cepas ATCC de “*Helicobacter pylori*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi* y *Pseudomonas aeruginosa*”, atribuyendo que dicho efecto se debe a la abundante presencia de fenoles.

En este caso, se logró ver una buena actividad antibacteriana frente a *Pseudomona aeruginosa*, con tan solo una diferencia de 3.4 mm frente al patrón Ciprofloxacino 4ug, esto puede deberse a la gran cantidad de pulegona, menthona, thymol y fenol presente en la composición de nuestro aceite; tal como se menciona en la investigación dada por Carhuapoma, la presencia de fenol podría ser un componente clave para una buena actividad frente a este tipo de bacterias, pero también debemos mencionar que las cantidades de dichos componentes pueden variar según diversos factores, como el tipo de cultivo que tuvo la planta, la altitud (según nuestra investigación la planta fue recogida a 2888 msnm a diferencia de la investigación de Carhuapoma que fue a 3000 msnm), ó incluso el método de obtención de aceite.

**4.8.6 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 27853 DE *Pseudomona aeruginosa* FRENTE AL PATRÓN CIPROFLOXACINO.**

**TABLA N°3811: Prueba de susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña) y el patrón ciprofloxacino frente a la cepa ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa***

	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Ciprofloxacino 4 µg (manual INS)	≤15	16-20	21≥
Ciprofloxacino 4 µg	-	-	33.48 mm
Aceite al 100%	-	-	30.08 mm

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

**RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

La tabla N° 38 muestra los resultados de los halos de inhibición obtenidos del fármaco patrón (Ciprofloxacino 4 µg) y del aceite de muña al 100%, sobre la cepa ATCC de *Pseudomonas aeruginosa*, dando como resultado un diámetro de 33.48 mm y 30.08 mm respectivamente, de acuerdo a estos resultados la cepa ATCC de *Pseudomonas aeruginosa* es sensible tanto para el aceite esencial de muña al 100% como para el patrón Ciprofloxacino 4 µg, todo esto en comparación a los datos elaborados de patrones estándar de halo de inhibición para *Pseudomonas aeruginosa* del “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión, 2012”.<sup>(133)</sup>

**TABLA N°39: Resultados descriptivos para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa***

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Ciprofloxacino 4 µG	3	33.4800	0.85633	0.49440	31.3528	35.6072	32.69	34.39
100%	3	30.0767	0.54537	0.31487	28.7219	31.4315	29.52	30.61
90%	3	29.2000	0.86747	0.50083	27.0451	31.3549	28.65	30.20
80%	3	24.0100	0.54672	0.31565	22.6519	25.3681	23.66	24.64
70%	3	24.3333	1.89616	1.09475	19.6230	29.0437	23.04	26.51
60%	3	23.2200	0.99519	0.57457	20.7478	25.6922	22.34	24.30
50%	3	22.0067	1.03394	0.59695	19.4382	24.5751	20.83	22.77
40%	3	21.4067	1.81313	1.04681	16.9026	25.9107	19.45	23.03
30%	3	19.3267	2.39609	1.38338	13.3745	25.2789	16.89	21.68
20%	3	15.5433	1.00201	0.57851	13.0542	18.0325	14.94	16.70
10%	3	12.3033	0.39209	0.22637	11.3293	13.2773	11.89	12.67
5%	3	8.4867	0.18877	0.10899	8.0177	8.9556	8.28	8.65
Total	36	21.9494	7.15702	1.19284	19.5279	24.3710	8.28	34.39

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°39 nos muestra los resultados descriptivos de los “halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*” obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

Se puede observar que la desviación estándar de todos los grupos posee valores muy bajos, siendo este parámetro una medida de dispersión nos indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto se traduce en que al realizar las pruebas por triplicado se obtuvo resultados similares intra grupos.

**TABLA N°120: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa***

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1756.884	11	159.717	106.721	0.000
Dentro de grupos	35.918	24	1.497		
Total	1792.802	35			

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°40 nos muestra los resultados del test ANOVA (análisis de la varianza) de los Halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa*. Se observa que la significancia posee un valor igual a cero, con lo cual se “rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos”, para determinar entre que grupos se encuentran dichas diferencias se procede a realizar un test post hoc de Duncan.

**TABLA N°41: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antibacteriana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 27853 de *Pseudomona aeruginosa***

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	9
5%	3	8.4867								
10%	3		12.3033							
20%	3			15.5433						
30%	3				19.3267					
40%	3					21.4067				
50%	3					22.0067	22.0067			
60%	3					23.2200	23.2200	23.2200		
80%	3						24.0100	24.0100		
70%	3							24.3333		
90%	3								29.2000	
100%	3								30.0767	
Ciprofloxacino 4 µG	3									33.4800
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	0.098	0.069	0.303	0.389	1.000

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

En la tabla N°41 podemos observar los resultados de la prueba Post Hoc de Duncan que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los Halos de inhibición obteniéndose en este caso 9 subconjuntos. Cada Subconjunto agrupa a los Halos de inhibición que no poseen diferencias estadísticamente significativas con una significancia mayor a 0.05, así podemos observar que ninguna de las concentraciones de Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) posee una actividad similar o parecida a la del Patrón Ciprofloxacino 4 µg, también se tiene que las concentraciones del Aceite esencial al 90 y 100%, poseen una actividad antibacteriana similar siendo estas las que presentaron un mayor Halo de inhibición.

### 4.8.7 ACTIVIDAD ANFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 90028 DE *Cándida albicans*

**TABLA N°42: Resultado de los diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans***

Nº de disco	Concentración del extracto	Diámetros de halos de inhibición (mm) en cepas ATCC de <i>Cándida albicans</i>			
		IG	IIG	IIIG	Promedio
1	25 µG (Fluconazol)	29.16 mm	29.15 mm	28.83 mm	29.05 mm
2	100%	18.01 mm	18.28 mm	16.47 mm	17.59 mm
3	90%	16.81 mm	16.25 mm	16.57 mm	16.54 mm
4	80%	15.41 mm	15.03 mm	15.46 mm	15.30 mm
5	70%	14.80 mm	14.96 mm	14.75 mm	14.84 mm
6	60%	14.60 mm	14.77 mm	14.52 mm	14.63 mm
7	50%	14.14 mm	14.60 mm	14.00 mm	14.25 mm
8	40%	12.07 mm	12.09 mm	12.62 mm	12.26 mm
9	30%	10.11 mm	10.01 mm	9.89 mm	10.03 mm
10	20%	8.49 mm	8.58 mm	8.18 mm	8.42 mm
11	10%	7.41 mm	7.50 mm	6.78 mm	7.23 mm
12	5%	6.45 mm	6.98 mm	6.24 mm	6.56 mm

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

## DONDE:

- IG: Primer grupo de halos
- IIG: Segundo grupo de halos
- IIIG: Tercer grupo de halos

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°42 nos muestra los “halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans*” obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

En dicha tabla se puede observar que el patrón Fluconazol 25 µg obtuvo un halo de inhibición de 29.05 mm, siendo este el de mayor medida, seguido por el aceite esencial al 100% con 17.59 mm.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

De aquí determinamos que “el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q’eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans*” presenta un halo de inhibición de 7.23 mm al 10%. En un estudio realizado por **Cano Perez, et. al.** <sup>(160)</sup> se logró demostrar “la actividad antimicótica in vitro y la elucidación de algunos de los metabolitos del aceite esencial de hojas de *Minthostachys mollis* (muña), logrando obtener un halo de inhibición de 30 mm para el aceite esencial al 100% y de 35 mm al 50% para *Cándida albicans*”. Además, se logró atribuir dicha actividad a la presencia de los siguientes monoterpenos: pulegona, mentona, limoneno y mirceno.

Es necesario volver a mencionar que en la región no contamos con investigaciones parecidas a la propuesta en esta investigación, por lo que se hizo la comparación con la planta del mismo género, pero de distinta especie, es así como nos dimos cuenta sobre las diferencias significativas entre ambos géneros, si bien es cierto nuestro aceite tuvo actividad antifúngica frente a *Cándida albicans*, existe una diferencia con el patrón de 11.46 mm, lo cual podría considerarse un valor bajo de inhibición para nuestro aceite. Como vimos en el párrafo anterior la investigación de Cano atribuye la actividad a la presencia de

pulegona, mentona, limoneno y mirceno, componentes también presentes en nuestro aceite, por lo que también tuvo efecto, pero no el esperado.

#### 4.8.8 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE ATCC 90028 DE *Cándida albicans* FRENTE AL PATRÓN FLUCONAZOL

**TABLA N°43: Prueba de suceptibilidad microbiana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña) y el patrón fluconazol frente a la cepa ATCC 90028 DE *Cándida albicans***

	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Fluconazol 25 µg (manual INS)	≤14	15-18	19≥
Fluconazol 25 µg	-	-	29.05 mm
Aceite al 100%	-	17.59 mm	-

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

#### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°43 muestra los resultados de los halos de inhibición obtenidos del fármaco patrón (Fluconazol 25µg) y del aceite de muña al 100%, sobre la cepa ATCC de *Cándida albicans*, dando como resultado un diámetro de 29.05 mm y 17.59 mm respectivamente, de acuerdo a estos resultados la cepa ATCC de *Cándida albicans* es sensible al fármaco patrón, a diferencia del aceite esencial de muña al 100% que tiene una sensibilidad intermedia, todo esto en comparación a los datos elaborados de patrones estándar de halo de inhibición para *Cándida albicans* del “Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método de Disco Difusión, 2012”. <sup>(133)</sup>

**TABLA N °13: Resultados descriptivos para la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans***

	N	Media	Desv. Estandar	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Fluconazol 25 µG	3	29.0467	0.18771	0.10837	28.5804	29.5130	28.83	29.16
100%	3	17.5867	0.97644	0.56375	15.1611	20.0123	16.47	18.28
90%	3	16.5433	0.28095	0.16221	15.8454	17.2413	16.25	16.81
80%	3	15.3000	0.23516	0.13577	14.7158	15.8842	15.03	15.46
70%	3	14.8367	0.10970	0.06333	14.5642	15.1092	14.75	14.96
60%	3	14.6300	0.12767	0.07371	14.3128	14.9472	14.52	14.77
50%	3	14.2467	0.31390	0.18123	13.4669	15.0264	14.00	14.60
40%	3	12.2600	0.31193	0.18009	11.4851	13.0349	12.07	12.62
30%	3	10.0033	0.11015	0.06360	9.7297	10.2770	9.89	10.11
20%	3	8.4167	0.20984	0.12115	7.8954	8.9379	8.18	8.58
10%	3	7.2300	0.39230	0.22650	6.2555	8.2045	6.78	7.50
5%	3	6.5567	0.38136	0.22018	5.6093	7.5040	6.24	6.98
Total	36	13.8881	5.86255	0.97709	11.9045	15.8717	6.24	29.16

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°44 nos muestra los resultados descriptivos de los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans* obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

Se puede observar que la desviación estandar de todos los grupos posee valores muy bajos, siendo este parametro una medida de dispersion nos indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto se traduce en que al realizar las pruebas por triplicado se obtuvo resultados similares intra grupos.

**TABLA N°14: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans***

	Suma de cuadrados	Gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	1199.529	11	109.048	768.591	0.000
Dentro de grupos	3.405	24	0.142		
Total	1202.934	35			

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°45 nos muestra los resultados del test ANOVA (análisis de la varianza) de los “Halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans*”.

Se observa que la significancia posee un valor igual a cero, con lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos, para determinar entre que grupos se encuentran dichas diferencias se procede a realizar un test post hoc de Duncan.

**TABLA N°46: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 90028 de *Cándida albicans***

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
5%	3	6.5567									
10%	3		7.2300								
20%	3			8.4167							
30%	3				10.0033						
40%	3					12.2600					
50%	3						14.2467				
60%	3						14.6300				
70%	3						14.8367	14.8367			
80%	3							15.3000			
90%	3								16.5433		
100%	3									17.5867	
Fluconazol 25 µG	3										29.0467
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	0.081	0.145	1.000	1.000	1.000

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°46 nos muestra los resultados de la prueba Post Hoc que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los Halos de inhibición obteniéndose en este caso 10 subconjuntos.

Cada Subconjunto agrupa a los Halos de inhibición que no poseen diferencias estadísticamente significativas con una significancia mayor a 0.05, así podemos observar que ninguna de las concentraciones de Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) posee una actividad similar o parecida a la del Patrón Fluconazol 25 µg.

#### 4.8.9 ACTIVIDAD ANFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) SOBRE CEPAS ATCC 28188 DE *Trichopyton rubrum*

**TABLA N°47: Resultado de los diámetros de halos de inhibición del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum***

Nº de disco	Concentración del extracto	Diámetros de halos de inhibición (mm) en cepas ATCC de <i>Trichophyton rubrum</i>			
		IG	IIG	IIIG	Promedio
1	30 µG (Terbinafina)	40.66 mm	40.21 mm	41.18 mm	40.68 mm
2	100%	43.91 mm	40.30 mm	44.72 mm	42.98 mm
3	90%	39.65 mm	40.53 mm	40.88 mm	40.35 mm
4	80%	38.23 mm	37.46 mm	39.32 mm	38.34 mm
5	70%	32.29 mm	39.49 mm	30.54 mm	34.11 mm
6	60%	29.58 mm	34.03 mm	26.70 mm	30.10 mm
7	50%	23.74 mm	25.64 mm	20.41 mm	23.26 mm
8	40%	11.72 mm	10.82 mm	11.56 mm	11.37 mm
9	30%	9.31 mm	6.85 mm	7.35 mm	7.84 mm
10	20%	0.00 mm	0.00 mm	0.00 mm	0.00 mm
11	10%	0.00 mm	0.00 mm	0.00 mm	0.00 mm
12	5%	0.00 mm	0.00 mm	0.00 mm	0.00 mm

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

#### **DONDE:**

- IG: Primer grupo de halos
- IIG: Segundo grupo de halos
- IIIG: Tercer grupo de halos

#### **RESULTADOS E INTERPRETACIÓN**

La tabla N°47 nos muestra los “halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum*” obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado.

En dicha tabla se puede observar que el patrón Terbinafina 30 uG obtuvo un halo de inhibición promedio de 40.68 mm, siendo la concentración de Aceite esencial al 100% la que presentó un mayor Halo de inhibición promedio de 42.98 mm, se puede observar también que las concentraciones al 5, 10 y 20 % del aceite esencial no mostraron ningún halo de inhibición. De aquí determinamos que el

aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum* presenta un halo de inhibición mínimo promedio de 7.84 mm a la concentración de 30%.

## ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Es importante mencionar que no se tiene una investigación de la especie en cuestión frente a la cepa de *Trichopyton rubrum*, por lo que no se pudo hacer una comparación. Pero haciendo el análisis correspondiente sobre nuestros resultados, la actividad obtenida fue mayor a la del patrón, esto se deba probablemente a los componentes presentes en el aceite, como la pulegona, la menthona, timol, fenol, carvacrol. Componentes que en investigaciones como la de **Velazque Carrasco, 2019** <sup>(40)</sup> mostraron ser efectivos frente a *Trichopyton rubrum*, pese a ser otra la planta estudiada.

### 4.8.10 DETERMINACION DE LA SUSEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'ESHUA MUÑA) Y DEL PATRÓN TERBINAFINA SOBRE CEPAS ATCC 28188 DE *Trichopyton rubrum*

**TABLA N°48: Prueba de susceptibilidad microbiana del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua Muña) y el patrón terbinafina frente a la cepa ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum***

	Diámetros de halos de inhibición (mm)		
	RESISTENTE	INTERMEDIO	SENSIBLE
Terbinafina 30 µg (manual INS)	≤12	25-35	40≥
Terbinafina 30 µg	-	-	40.68 mm
Aceite al 100%	-	-	42.98 mm

**FUENTE:** Elaboración Propia, 2020

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°48 muestra los resultados de los halos de inhibición obtenidos del fármaco patrón (Terbinafina 30µg) y del aceite de muña al 100%, sobre la cepa ATCC de *Trichopyton rubrum*, dando como resultado un diámetro de 40.68 mm y 42.98 mm respectivamente, de acuerdo a estos resultados la cepa ATCC de *Trichopyton rubrum* es sensible tanto para el aceite esencial de muña al 100%

como para el patrón Terbinafina 30µg. Es importante mencionar que actualmente no se ha estandarizado ningún método de prueba de susceptibilidad a base de agar para analizar dermatofitos, por lo que describimos los resultados en base a ensayos y estudios previos con esta cepa y este patrón considerándose fiables y confiables por el Método de Disco Difusión, que asegura tener un régimen de confianza alto. <sup>(161)</sup>

**TABLA N°49: Resultados descriptivos para la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum***

	N	Media	Desv. Estandar	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Terbinafina 30 µG	3	40.6833	0.48542	0.28026	39.4775	41.8892	40.21	41.18
100 %	3	42.9767	2.35318	1.35861	37.1311	48.8223	40.30	44.72
90 %	3	40.3533	0.63375	0.36589	38.7790	41.9276	39.65	40.88
80 %	3	38.3367	0.93458	0.53958	36.0150	40.6583	37.46	39.32
70 %	3	34.1067	4.74350	2.73866	22.3231	45.8902	30.54	39.49
60 %	3	30.1033	3.69292	2.13211	20.9296	39.2770	26.70	34.03
50 %	3	23.2633	2.64738	1.52847	16.6869	29.8398	20.41	25.64
40 %	3	11.3667	0.48014	0.27721	10.1739	12.5594	10.82	11.72
30 %	3	7.8367	1.30021	0.75067	4.6068	11.0666	6.85	9.31
Total	27	29.8919	12.68493	2.44122	24.8739	34.9098	6.85	44.72

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 49 nos muestra los resultados descriptivos de los halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum* obtenidos a partir de pruebas realizadas por triplicado. Se puede observar que la desviación estandar de todos los grupos posee valores muy bajos, siendo este parámetro una medida de dispersión nos indica que los datos recopilados son muy cercanos a su media, esto se traduce en que al realizar las pruebas por triplicado se obtuvo resultados similares intra grupos.

**TABLA N°50: Resultados del análisis de varianza (Anova) de la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum***

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Entre grupos	4079.359	8	509.920	88.058	0.000
Dentro de grupos	104.233	18	5.791		
Total	4183.591	26			

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

### RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N°50 nos muestra los resultados del test ANOVA “análisis de la varianza” de los “Halos de inhibición del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum*”.

Se observa que la significancia posee un valor igual a cero, con lo cual se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis del investigador que indica que existen diferencias estadísticamente significativas entre grupos, para determinar entre que grupos se encuentran dichas diferencias se procede a realizar un test post hoc de Duncan.

**TABLA N°51: Resultados de la Prueba post hoc de Duncan para la actividad antifúngica del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) sobre cepas ATCC 28188 de *Trichopyton rubrum***

Concentración	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
30%	3	7.8367	23.2633	30.1033	38.3367	40.3533
40%	3	11.3667				
50%	3					
60%	3					
70%	3					
80%	3			34.1067		
90%	3				40.3533	40.3533
Terbinafina 30 µg	3				40.6833	40.6833
100%	3					42.9767
Sig.		0.089	1.000	0.057	0.273	0.222

**FUENTE:** Valores brindados por el programa estadístico SPSS 25

## RESULTADOS E INTERPRETACIÓN

La tabla N° 51 nos muestra los resultados de la prueba Post Hoc de Duncan que nos muestra los contrastes de igualdad de medias entre rangos, el cual realiza la agrupación en subconjuntos de la media de los Halos de inhibición obteniéndose en este caso 5 subconjuntos.

Cada Subconjunto agrupa a los halos de inhibición que no poseen diferencias estadísticamente significativas con una significancia mayor a 0.05, así podemos observar que las concentraciones del Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) al 80 y 90 % poseen una actividad similar a la del Patrón Terbinafina 30 uG. Con una significancia de 0.273.

También se obtiene de esta tabla que la concentración de Aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) al 100 % es la que presentó mayor actividad actividad antimicótica.

## CONCLUSIONES

1. Se logró evaluar la actividad antimicrobiana frente a cuatro cepas ATCC del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), siendo el aceite quien obtuvo una mayor eficacia con los resultados para ambas actividades frente al extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) quien no presento efecto antimicrobiano. Además, se determinó la actividad antioxidante de las mismas especies, obteniendo un mejor resultado para el extracto etanólico que para el aceite.
2. Se obtuvo el extracto etanólico al 96% de *Taraxacum Officinale* (diente de león) y el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), también se determinó el porcentaje de rendimiento siendo 7.66% y 0.25% respectivamente y las características organolépticas de ambas plantas.
3. Se determinaron las propiedades fisicoquímicas el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) como: densidad, índice de refracción, rotación óptica, índice de acidez e índice de saponificación.
4. Se realizó el análisis cromatográfico del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) teniendo como metabolitos secundarios pulegona 27.48%, L-mentona 16.48% e isomentona 9.22% en mayor cantidad. En el caso del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) se realizó el análisis fitoquímico cualitativo obteniendo fenólicos en regular cantidad, y ausencia de flavonoides entre otros metabolitos.
5. Se determinó la actividad antioxidante in vitro del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) dando un porcentaje de captación de 75.24% a la concentración de 4mg/ml y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) dando un porcentaje de captación de 73.60% a la concentración de 32mg/ml.
6. El extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) no presentó actividad antimicrobiana frente a ninguna cepa ATCC, mientras que el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) presentó actividad antimicrobiana para las cuatro cepas (Cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*, Cepa ATCC 27853 *Pseudomona aeruginosa*, Cepa

ATCC 90028 de *Cándida albicans* y la Cepa ATCC 28188 *Trichopytom rubrum*) siendo resistente, sensible, intermedio y sensible respectivamente.

## SUGERENCIAS

“A LAS AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO”

- “Incentivar a la adquisición de equipos y utilización de los mismos para el estudio e investigación de especies vegetales de nuestra región, mediante concursos científicos y posteriores adquisiciones de becas de estudio”.

“A LOS DOCENTES DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”

- Sugerir la utilización de materiales y equipo para el estudio adecuado y profundizado de materias vegetales de nuestra ciudad.
- Organizar métodos para el cuidado, mantenimiento y buen manejo de los nuevos instrumentos, equipos, máquinas ya adquiridas en laboratorio, con el fin de continuar con mejor eficacia la realización de distintas investigaciones.
- Incentivar a la participación de publicaciones de trabajos científicos en revistas certificadas en la web, que posteriormente podrían servir como fuente sertera de antecedentes a nivel mundial.

“A LOS ALUMNOS DE LA CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA”

- Realizar más estudios con diferentes métodos de extracción para la obtención de metabolitos de diferente naturaleza polar, así como también comparar sus actividades farmacológicas.
- Realizar un análisis fitoquímico cuantitativo, para caracterizar cuantificar y aislar los metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (diente de leòn) con el fin de evaluar los mecanismos de acción de los principios activos responsables de la actividad antioxidante y antibacteriana.

- Realizar estudios de toxicidad del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) para así establecer una dosis adecuada permitida para uso clínico.
- Desarrollar y evaluar formulaciones farmacéuticas con el aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña), para su uso clínico y coadyuvar en el tratamiento de afecciones causados por *Trichophyton rubrum*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Rojas N. Actividad antibacteriana de *Boldoa purpurascens*. Revista Cubana Plantas Medicinales [Online], 2014. [citado el 30/12/2018, 7.32 pm] Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1028-47962004000200003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962004000200003).
2. Ramzi A. Assessment of selected Yemeni medicinal plants for their in vitro antimicrobial, anticancer and antioxidant activities. Pharmaceutical Biology [Online], 2011. Pag.200–210. Informa Healthcare USA. [Citado el 30/12/2018, 7:54 pm] Disponible en: [https://www.researchgate.net/profile/Ramzi\\_Mothana/publication/47413574\\_Assessment\\_of\\_selected\\_Yemeni\\_medicinal\\_plants\\_for\\_their\\_in\\_vitro\\_antimicrobial\\_anticancer\\_and\\_antioxidant\\_activities/links/0912f5098c7840e4b6000000/Assessment-of-selected-yemeni-medicinal-plants-for-their-in-vitro-antimicrobial-anticancer-and-antioxidant-activities.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Ramzi_Mothana/publication/47413574_Assessment_of_selected_Yemeni_medicinal_plants_for_their_in_vitro_antimicrobial_anticancer_and_antioxidant_activities/links/0912f5098c7840e4b6000000/Assessment-of-selected-yemeni-medicinal-plants-for-their-in-vitro-antimicrobial-anticancer-and-antioxidant-activities.pdf).
3. Traditional Medicine Strategy 2002-2005. Geneva: World Health Organization; [Online],2002 [citado el 30/12/2018 7:59 pm] Disponible en: [http://www.wpro.who.int/health\\_technology/book\\_who\\_traditional\\_medicine\\_strategy\\_2002\\_2005.pdf](http://www.wpro.who.int/health_technology/book_who_traditional_medicine_strategy_2002_2005.pdf).
4. Luqman S, Srivastava S, Kumar R, Maurya A, Chanda D. Experimental assessment of *Moringa oleifera* leaf and fruit for its antistress, antioxidant, and scavenging potential using in vitro and in vivo assays. Evid Based Complement Alternat Med; [Online], 2012 [citado el 30/12/2018 8:03pm] Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/ecam/2012/519084/>.
5. Khan M, Kihara M, Omoloso A. Antimicrobial activity of *Symplocos cochinchinensis*. Fitoterapia. [Online],2001. [Citado 30/12/2018 8:04pm] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11677024>.
6. Njume C, Afolayan A, Samie A, Ndip R. Inhibitory and bactericidal potential of crude acetone extracts of *Combretum molle* (Combretaceae) on drug-resistant strains of *Helicobacter pylori*. J Health Popul Nutr. [Online],2011 [Citado 30/12/2018 8:05pm] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22106749>.

7. Samy R, Ignacimuthu S, Sen A. Screening of 34 Indian medicinal plants for antibacterial properties. *J Ethnopharmacol*. [Online],1998; pagina 173-81. [citado 30/12/2018 8:07pm] Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9741889>.
8. Bouchouka E, Djilani A, Bekkouche A. Antibacterial and antioxidant activities of three endemic plants from Algerian Sahara. *Acta Sci Pol Technol Aliment*. [Online],2012; página 61-5. [citado 30/12/2018 8:09pm] Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v18n1/pla08113.pdf>.
9. Zuta Arriola, Noemi. Efectividad Antioxidante, Antibacteriana Y Moduladora Del Extracto Alcohólico De Hojas De Pelargonium Hortorum “Geranio” Frente A Staphylococcus Aureus De Resistencia Multiple. Universidad Nacional Del Callao Escuela De Posgrado Unidad De Posgrado De La Facultad De Ciencias De La Salud-Callao [Online], 2019 - PERÚ [Citado 25/03/2020 - 01:30 Am] Disponible En: [Http://Repositorio.Unac.Edu.Pe/Bitstream/Handle/UNAC/3991/ZUTA%20ARRIOLA\\_DOCTORADO\\_2019.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y](Http://Repositorio.Unac.Edu.Pe/Bitstream/Handle/UNAC/3991/ZUTA%20ARRIOLA_DOCTORADO_2019.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y).
10. OMS, Informe del taller interregional de la OMS sobre el uso de medicina tradicional en la atención primaria de salud. [Online],2007. [citado 05/01/2019 10:32 pm] Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s16202s/s16202s.pdf>.
11. Global action plan on AMR [Online], [citado 27 de diciembre de 2019, 11.44pm] Disponible en: [http://www.wpro.who.int/entity/drugresistance/resources/global\\_action\\_plan\\_eng.pdf](http://www.wpro.who.int/entity/drugresistance/resources/global_action_plan_eng.pdf) 09:37.
12. Allcock S, Young EH, Holmes M, Gurdasani D, Dougan G, Sandhu MS, et al. Antimicrobial resistance in human populations: challenges and opportunities. *Glob Health Epidemiol Genomics*. [Online],2017; [Citado 05/01/2019, 02:34 am] Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/global-health-epidemiology-and-genomics/article/antimicrobial-resistance-in-human-populations-challenges-and-opportunities/B6F064EEC903224335142CD1A75FCAB5>
13. The Rational Use of Drugs. Report of the Conference of Experts. Ginebra. [Online], 2001. Disponible en: [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37403/1/9243561057\\_spa.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/37403/1/9243561057_spa.pdf).

14. R.Fernández Urrusuno. Grupo de Trabajo de la Guía. Guía de Terapéutica Antimicrobiana del Área Aljarafe, 3ª edición, Sevilla. Distrito Sanitario Aljarafe-Sevilla Norte y Hospital San Juan de Dios del Aljarafe, 2018. [https://portal.guiasalud.es/wpcontent/uploads/2018/12/GPC\\_578\\_Antimicrobianos\\_Aljarafe\\_2018.pdf](https://portal.guiasalud.es/wpcontent/uploads/2018/12/GPC_578_Antimicrobianos_Aljarafe_2018.pdf)
15. Global Strategy for Containment of Antimicrobial Resistance. Geneva [Online], 2001. Disponible en: [http://www.who.int/csr/resources/publications/drug\\_resist/en/EGlobal\\_Strat.pdf](http://www.who.int/csr/resources/publications/drug_resist/en/EGlobal_Strat.pdf).
16. MINSA. Norma técnica de prevención y control de infecciones Intrahospitalarias, Dirección general de salud de las personas, Dirección ejecutiva de Servicios de salud, Ministerio de Salud - PERU. [Online], 2004. Disponible en: <http://www.insnsb.gob.pe/docs-web/calidad/sdp-minsa/sdp-minsa-1.pdf>.
17. Plan Nacional - El portal de resistencia a los antimicrobianos [Online], [citado 27 de diciembre de 2017]. Disponible en: <http://antimicrobianos.ins.gob.pe/plan-nacional>.
18. Angles E. Uso racional de antimicrobianos y resistencia bacteriana ¿hacia dónde vamos? Rev Med Hered. [Online],2018. Facultad de Medicina Alberto Hurtado, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, Perú. [citado /05/01/2019 11.51 pm] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sciarttext&pid=S1018-130X2018000100001>.
19. Guija Poma, Emilio; Inocente Camones, Miguel Angel, et.al. Evaluación de la técnica 2,2-difenil-1-picrihidrazilo (DPPH) para la determinación de capacidad antioxidante. USMP. Lima-Peru, [Online],2015 [citado 03/02/2019, 08:21 pm] Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>.
20. Víctor Hugo Doroteo, Camilo Díaz, Cecilia Terry, Rosario Rojas. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. Facultad de Ciencias y Filosofía, Universidad Peruana Cayetano Heredia. Rev. Soc. Quím. Perú. 79 (1) [Online],2013. Página 14 [citado 05/01/2019 11.25pm] Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2013000100003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100003).
21. Erick David Vásquez Mora y Bach. José Luis Paredes Paredes. Estudio comparativo de la actividad Antibacteriana in vitro de Curcuma longa y

- Zingiber officinale frente a Staphylococcus aureus, Escherichia coli y Pseudomonas aeruginosa. IQUITOS – PERU, [Online], 2019 [citado 25/03/2020 - 01:50 am] Disponible en: [http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6232/Erick\\_Tesis\\_Titulo\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/6232/Erick_Tesis_Titulo_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
22. Quiroga Zanabria, Danny Joseph, Quispe Tapia, Jaime Armando. Determinacion del efecto antibacteriano sobre cepas ATCC y cepas aisladas de Escherichia Coli y Pseudomona Aeruginosa, y determinacion de la toxicidad subaguda del extracto seco hidroalcohólico al 70 % de la especie vegetal Psidium Guajava “Sahuinto”. [tesis] Universidad San Antonio Abad del Cusc-2012.
  23. Madigan, T. M., Martinko, M. J., & Parker, J. (2010). Biología de los microorganismos Brock (Décima ed.). México: Pearson Prentice Hall.
  24. Romeu, B. (2012). Caracterizacion de cepas de Escherichia coli de importancia clinica humana aislada de ecosistema dulceacuicola de la habana [Tesis]. habana: Facultad de Biologia Departamento de Microbiologia y Virologia
  25. Cardoso C.L., Silva H.S, Castro-Gamboa Ian., Bolzani V.S. New Biflavonoid and Other Flavonoids from the Leaves of Chimarrhis turbinata and their Antioxidant Activity. Journal of Brazilian Chemical Society. [Tesis]. 2005.
  26. Marwah R.G., Fatope M.O., Mahrooqi R.A., Varma G.B, Abadi H.A., Khamis S., Burtamani-Al. Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman. Food chemistry. [Tesis]. 2007.
  27. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic Pathology. [Tesis]. 2002.
  28. Kohen R, Nyska A. Oxidation of biological systems: Oxidative stress phenomena, antioxidants, redox reactions, and methods for their quantification. Toxicologic Pathology. [Tesis]. 2002.
  29. Venereo, J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Revista Cubana de Medicina Militar, [Tesis]. 2002.

30. Figueroa Díaz Susana Lastenia, Br. Mollinedo Moncada Ofelia. Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* "pitahaya" e identificación de los fitoconstituyentes. Facultad De Farmacia Y Bioquímica Escuela Académico Profesional De Farmacia Y Bioquímica Lima – Perú [Online], 2017 Disponible en: <https://docplayer.es/75750140-Facultad-de-farmacia-y-bioquimica-escuela-academico-profesional-de-farmacia-y-bioquimica.html>.
31. Guamán Pilco, F. V. Determinación y comparación de la actividad antibacteriana in vitro de extractos de dos especies de ortiga sobre bacterias de importancia clínica. [Tesis], 2015. Riobamba: Escuela superior Politécnica de Chimborazo.
32. Castilla Coaguila, C. Determinación del efecto bacteriana in vitro del extracto de hojas de *Carica pubescens* (Caricaceae) Papaya Arequipeña frente a Bacterias Patógenas [Tesis], 2016. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín: Escuela Profesional y Académica de Biología.
33. Cristian Nicolás Rodríguez Pava, Andrés Gabriel Zarate Sanabria, Ligia Consuelo Sánchez Leal. Actividad Antimicrobiana De Cuatro Variedades De Plantas Frente A Patógenos De Importancia Clínica En Colombia, [Online], 2018 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v15n27/1794-2470-nova-15-27-00119.pdf>
34. Tapia J. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y subextractos clorofórmico y etéreo de *Senna multijuga*, *Tagetes zipaquirensis* y *Coursetia dubia*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Ecuador [Online], 2012. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2449/1/56T00318.pdf>.
35. Beatriz Edith Barba Carrión / Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Mintostachys mollis* (MUÑA), sobre *Salmonella* comparado con Cotrimoxazol. Facultad De Ciencias Médicas Escuela Académico Profesional De Medicina. Trujillo – Perú [Online], 2019. [citado el día 26/03/2020 09:22 pm] disponible en: [http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/40287/Barba\\_CBE.pdf?sequence=1](http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/40287/Barba_CBE.pdf?sequence=1).
36. Zuta Arriola, Noemi. Efectividad Antioxidante, Antibacteriana Y Moduladora Del Extracto Alcohólico De Hojas De *Pelargonium Hortorum*

- “Geranio” Frente A *Staphylococcus Aureus* De Resistencia Multiple. Universidad Nacional Del Callao Escuela de Posgrado Unidad de Posgrado de la Facultad De Ciencias De La Salud. Callao, [Online], 2019 PERÚ [citado 25/03/2020 - 01:30 am] disponible en: [http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/3991/ZUTA%20ARRIOLA\\_DOCTORADO\\_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unac.edu.pe/bitstream/handle/UNAC/3991/ZUTA%20ARRIOLA_DOCTORADO_2019.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
37. Reaño Ortega Cinthia Karina. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólicos de *Aloysia tiphylia* (Cedrón), *Rosmarinus officinalis* (Romero), *Mentha spicata* (Hierba buena), *Portulaca oleraceae* (Verdolaga) y *Taraxacum officinale* (Diente de león). Universidad nacional de Trujillo, peru [Online], 2014. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4801/Reaño%20Ortega%2c%20Cinthia%20Karina.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
38. Asto R. Efecto antibacteriano in vitro del aceite esencial de *Schinus molle* L. “molle” frente a bacterias Gram negativas y Gram positivas [Tesis]. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa; 2014.
39. Juan Carlos Velazque Carrasco. Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del *Origanum vulgare* L. (Orégano) frente *Trichophyton rubrum* ATCC 28188. UNSAAC [Online], 2019. [Citado el 21/04/2020 22:58 pm.] Disponible en: [http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4657/253T20190613\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4657/253T20190613_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
40. Alejandra Lida Espinoza Mormontoy. 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*. unsaac cusco – Peru 2018 [http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4657/253T20190613\\_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/4657/253T20190613_TC.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
41. Duràn Cascamayta Renato. Actividad antioxidante in vitro de los extractos etanólicos y metanólicos de *Sphagnum maguellanicum* “Musgo Blanco”. Universidad San Antonio Abad del Cusco, [Tesis]. 2018.
42. Moina, V. Actividad antibacteriana in vitro de colutorios elaborados con aceites esenciales de *Luma chequen* (Feuilleé ex molina) A. Gray

- “Arrayán” y *Minthostachys spicata* (Benth). Epling “Yuraq Muña” frente a la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, [Tesis]. 2015.
43. Ministerio de salud relanza su campaña para promover el uso racional de antibióticos ante la resistencia bacteriana/Minsa/ [Online], [citado 04/02/2019, 01:03 am] Disponible en: <https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwju7pa4raHgAhXRuFkKHWjYCUgQFjABegQIBBAB&url=http%3A%2F%2Fwww.hipertensionpulmonarargentina.org%2Fministerio-de-salud-relanza-su-campana-para-promover-el-uso-racional-de-antibioticos-ante-la-resistencia-bacteriana%2F&usg=AOvVaw2PcpyPakgBGobJOyu4v0u->
  44. OMS. Conferencia ministerial sobre la resistencia a los antibióticos. [Online], 2014. [Citado 04/02/2019] Disponible en: [https://www.who.int/drugresistance/netherlands\\_meeting\\_june\\_2014/es/](https://www.who.int/drugresistance/netherlands_meeting_june_2014/es/)
  45. OMS. El primer informe mundial de la OMS sobre la resistencia a los antibioticos pone manifiesto una grave amenaza para la salud pública en todo el mundo. [Online] [Citado 04/02/2019. 01:16 am] Disponible en: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/es/>
  46. Chan Margaret. Resistencia a los antimicrobianos en la Unión Europea y en el mundo/ OMS/ Copenhague, Dinamarca [Online], 2012. [Citado 04/02/2019. 01:18 am] Disponible en: [https://www.who.int/dg/speeches/2012/amr\\_20120314/es/](https://www.who.int/dg/speeches/2012/amr_20120314/es/)
  47. Uso racional de medicamento. [Online], [Citado 04/02/2019. 01:31 am] Disponible en: [http://www.femeba.org.ar/documentos/download/3049?utm\\_medium=Email&utm\\_source=Newsmaker&utm\\_campaign=buschiazzo-resistencia-acteriana&utm\\_content=http%253A%252F%252Fwww.femeba.org.ar%252Fdocumentos%252Fdownload%252F3049](http://www.femeba.org.ar/documentos/download/3049?utm_medium=Email&utm_source=Newsmaker&utm_campaign=buschiazzo-resistencia-acteriana&utm_content=http%253A%252F%252Fwww.femeba.org.ar%252Fdocumentos%252Fdownload%252F3049).
  48. Organismo andino de salud. Convenio Hipólito Unanue. Recopilación y análisis de los estudios de resistencia antimicrobiana en la sub región andina [Online], 2014. [Citado 04/02/2019. 02:02 am] Disponible en: <http://oras.conhu.org/areas-acan/consultor%3AD>.
  49. Quispe Z. Incidencia de infecciones asociadas a la atención de la salud en establecimientos de salud internamientos en el Perú. Boletín epidemiológico del Perú. 2015. 809-813.

50. Solis Llavilla Janeth Miriam. Perfil microbiológico y sensibilidad bacteriana en infecciones del tracto urinario en pacientes hospitalizados del servicio de medicina interna, Hospital Nacional Adolfo Guevara Velasco ESSALUD-Cusco, [Online], 2017. Universidad Andina del Cusco-Perú. disponible en: [http://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/UAC/1440/3/Janeth\\_Tesis\\_bachiller\\_2018.pdf](http://repositorio.uandina.edu.pe/bitstream/UAC/1440/3/Janeth_Tesis_bachiller_2018.pdf)
51. Sayago Ayerdi, Sonia Guadalupe. Antioxidantes. En alimentos y salud. Revista fototécnica mexicana, [Online], 2013. Pp. 263-264. México. [Citado 04/02/2019 02:32 am] Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/610/61028975012.pdf>
52. Antioxidante y salud. Evidencia científica. [Online], Disponible en: <http://www.portalantioxidantes.com/antioxidantes-y-salud/>
53. Antioxidantes aliados de la salud. [Online], Disponible en: [https://www.fundacionbengoa.org/informacion\\_nutricion/antioxidantes.as](https://www.fundacionbengoa.org/informacion_nutricion/antioxidantes.as)
54. De la OSA. José. Antioxidantes. [Online], Disponible en: <http://www.granma.cu/granmad/salud/consultas/a/a24.html>
55. Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. J.I. ELEJALDE GUERRA. Servicio de Medicina Interna del Hospital de Navarra. [Online], Disponible en: [www.scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.Pdf](http://www.scielo.isciii.es/pdf/ami/v18n6/revision1.Pdf).
56. Uvidia Ortiz, R. Determinación de la Actividad Antimicrobiana del extracto etanólico y subextractos etéreo y cloroformico de *duranta tricante* juss, *callistemon speciosus* y *tagetes minuta*. [Tesis]. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Facultad de Ciencias Escuela de Bioquímica y Farmacia
57. Bonilla, P. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana del Extracto Etanólico de *Carrasquilla (berberis hallii)* sobre *Escherichia coli* ATCC9637, *Candida albicans* ATCC 10231, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 [Tesis], 2011. Riobamba: Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacia de Riobamba.
58. Benvenuto Vargas, Verónica Patricia. Determinación de *Escherichia coli* enteropatógena (ECEP) en agua de mar del Circuito de Playas de la Costa Verde. Tesis Lima, Perú 2017. Disponible en:

- [http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto\\_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1016/Benvenuto_vp.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
59. Rodríguez Angeles, Guadalupe, Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológicos. México, D.F., México, 2002. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/spm/v44n5/14036.pdf>
  60. Forbes, B., & Sahm, D. Bailey Scott Diagnóstico Microbiológico (12° Ed ed.). Madrid: panamericana. [Tesis], 2009.
  61. Montero, M. *Pseudomonas aeruginosa* multiresistente: aspectos epidemiológicos, clínicos y terapéuticos. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona, ESPAÑA. [Tesis], 2012.
  62. Larry M. Bush. Infecciones por *Pseudomonas* y patógenos relacionados. *Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic University; 2018* Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacilos-gramnegativos/infecciones-por-pseudomonas-y-pat%C3%B3genos-relacionados>.
  63. Rodríguez Pascual, Carlos. Candidiasis. Revisado el 14/10/2020 a las 11:32 am. Disponible en: [file:///C:/Users/djstr/Downloads/S35-05%2044\\_III.pdf](file:///C:/Users/djstr/Downloads/S35-05%2044_III.pdf)
  64. Guía de práctica clínica. Diagnóstico y tratamiento de candidiasis invasiva adulta. Estados Unidos Mexicanos. Citado el día 14/10/2020 a las 11:34 am. Disponible en: [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/562\\_GPC\\_Candidiasisinvasiva/GRR\\_CandidiasisInvasiva.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/562_GPC_Candidiasisinvasiva/GRR_CandidiasisInvasiva.pdf)
  65. Echevarría Escribens, Carlos. Infecciones atípicas por *Trichopytom rubrum* en un paciente inmunocomprometido. Hospital nacional E. Rebagliati. Instituto Peruano de Seguridad Social. Citado el 14/10/2020 13:18 pm. Disponible en: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol9\\_n4/trich\\_rubrum.htm](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/fofia/vol9_n4/trich_rubrum.htm)
  66. Urcía F, Guevara M. Eficacia de Medios de Cultivo con Infusiones de Variedades de Papa en la Identificación del *Trichophyton rubrum*. *Rev. Perú. med. exp. salud pública* 2002; 19:206-208.
  67. Hernández-Salazar A, Carbajal-Pruneda, Fernández Martínez R y Arenas R. Dermatofitosis por *Trichophyton rubrum*. Experiencia de 10 años

- (1996-2005) en un servicio de dermatología de un hospital general de la Ciudad de México. [Tesis], 2007. Rev Iberoam Micol; 24: 122-124.
68. Valdivia Blondet, Luis. Las dermatofitosis: Clínica, diagnóstico y tratamiento. Revista Perú, 2003. Citado el 14/10/2020 13:59 pm. Disponible en: [https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v13\\_n1/derma\\_clini.htm](https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v13_n1/derma_clini.htm)
69. Sociedad española de farmacia hospitalaria. Atención farmacoterapéutica al paciente con infecciones fúngicas. Citado el 14/10/2020 14:09 pm. Disponible en: <http://formacion.sefh.es/dpc/framework/atf-infecciosas/paciente-infecciones-fungicas/tema01menu02submenu02dia-po01.php>
70. Negroni M. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 1ª edición. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana; 1999. p: 203 -215.
71. Brooks G, Butel J, Ornston N. Microbiología Médica de Jawetz, Melnicky Adelberg. 15ª edición. México: Editorial Manual Moderno; 1996.
72. Oblitas E. Plantas medicinales en Bolivia: farmacopea Callaway. 2ª Edición. La Paz: Editorial los amigos del libro; 1998. p. 8.
73. Agencia de cooperación técnica del Perú (ACT) del Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (IICA). Plantas medicinales en atención primaria de salud, agroindustria, fitoquímica y ecoturismo: Perspectivas de desarrollo en la región Los Libertadores Wari (curso regional). Ayacucho (Perú): 1999. p: 237 – 246.
74. Bardales A, Yarlequé M, Rueda L. Estudio biológico y Fitoquímica del extracto alcohólico de *Minthostachys mollis* "Muña". I Congreso Internacional de Biología - XIII Congreso Nacional de Biología- VII Simposium de Educación en Ciencias Biológicas. Lima: Perú; 1999
75. Sotta N. Plantas aromáticas y medicinales de la. región Arequipa. 1ª edición. Arequipa: Editorial Akuarella; 2000: 99-100
76. Oviedo F. Ensayos toxicológicos preliminares con aceite esencial d 'muña'. Tesis de bachiller. Cuzco: UNSAAC; 1979.
77. Morales A. Estudio de la extracción y características de los aceites esenciales de *Minthostachys mollis* y de *S. Sagittata* (hierba buena).

- [Tesis] bachiller para Químico. Lima: UNALM; 1973
78. Inga A y Guerra B. Efecto del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) contra algunas bacterias y hongos de interés en la salud. Tesis de bachiller para Químico Farmacéutico. Lima: UNMSM; 2000.
79. Weberbauer M. El mundo vegetal de los Andes Peruanos. 1° edición. Lima: Editorial Lumen S.A.; 1945.
80. Jaroslav S. Vocabulario de los nombres vulgares de la Flora Peruana. 1° edición. Lima: Editorial Salesiana; 1970
81. Solis Quispe, Leoncio. Chemical composition, antioxidant and antiproliferative activities of essential oil from *Schinus areira* L. and *Minthostachys spicata* (Benth.) Epl. grown in Cuzco, Peru. *Journal of Essential Oil Research*, 2015. Citado el 15/10/2020. Disponible en: <https://sci-hub.st/https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/10412905.2015.1120691?scroll=top&needAccess=true>
82. Isaac Azaña Espinoza, Efectividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Minthostachys mollis* (muña) sobre bacterias prevalentes en patologías periapicales crónicas de origen endodóntico, Tesis de bachiller para Cirujano Dentista, Facultad de Odontología-UNMSM 2010.
83. Duraffourd C, D' hervicourt L, La praz JC. Cuadernos de Fitoterapia Clínica. 1° edición. París: editorial Masson SA; 1983.
84. Look de Ugaz, O "Investigación fotoquímica". Métodos en el estudio de productos naturales PUCP Fondo editorial 1988.
85. Strasburger E, Noll E, Schenk H. Tratado de Botánica. 7° edición: ediciones Marín Barcelona - España 1978.
86. Augusto W. Fraccionamiento del aceite esencial de *Minthostachys mollis*(muña) y su aplicación en la inhibición del brotamiento de papa cultivar mariva. Tesis de bachiller para Químico. Lima: UNALM; 1975.
87. Miller E. Fisiología Vegetal. 1° Edición. México D.F.: Editorial Centro Regional de Ayuda Técnica; 1967: 111-114.
88. Agapito T. y Sung I. Fito Medicina 110 Plantas Medicinales. 1° edición. Lima: Editorial Isabel IRL; 2003.
89. Motle P. Proyecto de factibilidad para la instalación de una planta de extracción de aceite esencial de Menta. Tesis de bachiller. Lima: UNI; 1977.

90. Ángela Vicharra Morales, 2017. Polifenoles y actividad antioxidante del extracto alcohólico de *Taraxacum officinale*. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú, 2017. Citada 15/10/2020 22.15 pm. Disponible en: <file:///C:/Users/djstr/Downloads/513-Texto%20del%20art%C3%ADculo-1657-1-10-20191010.pdf>
91. Guímaro, A. Enciclopedia de las Plantas que curan., 2a ed., Sao Paulo - Brasil, Conselho, 1994, p., 184-185.
92. Diente de león. Propiedades. Citado el 15/10/2020 22:44 pm. Disponible en: <https://dientedeleon.es/informacion-nutricional/>
93. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL DIENTE DE LEÓN. 27.10.2011. disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S147962300005&script=sci\\_arttext](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S147962300005&script=sci_arttext).
94. Kuklinski, C. (s.f.). Farmacognosia estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Omega.
95. Carrión Jara, A., & García Gómez, C. (2010). Preparación de Extractos Vegetales: Determinación de Eficiencia de Metodología [Tesis]. Ecuador. Universidad De Cuenca Facultad De Ciencias Químicas Escuela De Bioquímica y Farmacia.
96. Shelles Flores. Farmacia galénica. Madrid Selsa, 1992.
97. Hay RJ, Del Palacio Hernanz A, eds. First symposium on terbinafine. Clin Exp Dermatol 1989; 14:97-127.
98. Trinchieri A. Demuestran Eficacia de la Ciprofloxacina de Liberación Modificada en Infecciones Urinarias. Urología [online] 2006 [Citada en Julio del 2014.]. Disponible en: <http://www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/apua-cuba/u4demuestran-eficacia-de-la-ciprofloxacina-deliberacion-modificada-en-infecciones-urinarias.pdf>.
99. DS, Stotka J, Rock W, et al. Efecto de la ciprofloxacina en la farmacocinética y la farmacodinamia de la warfarina. Clin Infect Dis 1996; 22: 251-6.
100. Juan Daniel Carton Herrán/ Actividad antifúngica de la combinación de fluconazol con otros fármacos: Un enfoque terapéutico alternativo de las candidiasis/ Leioa, [Online] 2018. [citado el 30/03/2020 23:21 pm] / disponible en: [https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/28894/TEISIS\\_](https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/28894/TEISIS_)

CARTON%20HERRAN\_JUAN%20DANIEL.pdf?sequence=1&isAllowed=y

101. Gerald F. Combs, Jr., PhD. Vitaminas. En: Krause Mendelson M. Nutrición y Dietoterapia. 10ª ed. México, DF: McGraw-Hill Interamericana; 2001. p 74-117.
102. Charles, D. Sources of Natural Antioxidants and Their Activities. Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. Editorial SpringerVerlag New York, 2013. 65–138 pp. ISBN: 978-1-4614-4310-0.
103. Belsare, D.P., Pal, S.C., Kazi, A.A., Kankate, R.S., and Vanjari, S.S., Evaluation of Antioxidant Activity of Chalcones and Flavonoids. Int. J. ChemTech. Res;(2010); 2(2), 1080-1089.
104. Katalinic v., Modun D., Music I., Boban M. Gender differences in antioxidant capacity of rat tissues determined by 2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline 6sulfonate; ABTS) and ferric reducing antioxidant power FRAP assays. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology; (2005). 140: 47-52.
105. Doria E., Buonocore D., Focarelli A., Marzatico F. (2012). Relationship between human aging muscle and oxidative system pathway. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. Volume 2012: 13 paginas.
106. Montero M. Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. Anales de la Facultad de medicina. (1996); 57 (4): p.36-44.
107. Rueda C. Antioxidantes naturales: Cómo reducir el riesgo de cáncer, Alzheimer y enfermedades cardiovasculares. 1era ed. Madrid: Ediciones Nowtilus S.L. (2010).
108. Zamora, D. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Revista chilena de Nutrición, (2007). 34(1), 17-26. 47.
109. García, B., Saldaña, A., & Saldaña, L.El estrés oxidativo y los antioxidantes en la prevención del cáncer. Revista Habanera de Ciencias Médicas, (2013) 12 (2), 187-196.
110. Myra M. Tetteh, MPP.Ciencias de la salud y estrés oxidativo. Centro de Excelencia en Ciencias de Salud Ambiental de la Universidad de Michigan Environmental Health Fact Sheet, (2012).
111. Villanueva-Tiburcio J E, L A Condenzo-Hoyos, E R Asquieri Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante

- en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubi* (H. B. K.) McVaugh). *Ciencia e Tecnol. Alim.* (2010); 30:151-160.
112. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of a free radical método to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol.* (1995); 20: 25-30.
  113. Maribel Roxana Moreno Olarte Bach. Guissela Yesenia Nuñez Gabriel. Efecto Antibacteriano Del Extracto Hidroalcohólico De Las Flores De Manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) Frente A Cepas De *Streptococcus Pyogenes* Atcc 19615, In Vitro. Lima – Perú [Online], 2018 [citado 31/03/2020 01:36 am] Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS\\_MARIBEL%20ROXANA\\_Y\\_GUISSELA%20YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS_MARIBEL%20ROXANA_Y_GUISSELA%20YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
  114. Gregori Valdés Barbara Susana. Estructura y actividad de los antifungicos. *Rev. Cubana fram* v.39 n.2 ciudad de la Habana Mayo-Ago. [Online], 2005. [Citado 21/04/2020 23:58 pm]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152005000200012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000200012)
  115. Neyra Guerrero, Jesús Percy. Actividad antibacteriana, in vitro, del extracto hidroalcoholico de *origanum vulgare* sobre *streptococcus mutans* atcc 25175tm. Pimentel – Perú [Online],2017. [citado 31/03/2020 01:40 am]. Disponible en: <https://pdfs.semanticscholar.org/ff81/413ff90688961fc3b7243ff8421322428b66.pdf>
  116. Héctor Emilio Garay Montañez. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Origanum vulgare* L. “orégano” sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, in vitro. Cajamarca [Online], 2015. [citado 31/03/2020 01:32 am]. Disponible en: <http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1643/Efecto%20antibacteriano%20del%20aceite%20esencial%20de%20Origanum%20vulgare%20L..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
  117. Maribel Roxana Moreno Olarte Bach. Guissela Yesenia Nuñez Gabriel. Efecto Antibacteriano Del Extracto Hidroalcohólico De Las Flores De Manzanilla (*Matricaria Chamomilla*) Frente A Cepas De *Streptococcus*

- Pyogenes Attc 19615, In Vitro. Lima – Perú [Online], 2018 [citado 31/03/2020 01:36 am] Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS\\_MARIBEL%20ROXANA\\_Y\\_GUISSELA%20YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/2429/TESIS_MARIBEL%20ROXANA_Y_GUISSELA%20YESENIA.pdf?sequence=3&isAllowed=y)
118. Kely Eusebia Muller Tito. Capacidad Antioxidante Y Contenido De Flavonoides Entre Las Semillas De Chia Negra (Salvia Nativa) Y Chia Blanca (Salvia Hispánica L.) Puno, [Online], OCTUBRE 2014 – ENERO 2015. [citado 31/03/2020 01:51 am] Disponible en: [http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2376/Muller\\_Tito\\_Kely\\_Eusebia.pdf?sequence=1](http://tesis.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/2376/Muller_Tito_Kely_Eusebia.pdf?sequence=1)
119. Milagros del pilar vicente ochoa. Determinación de capacidad antioxidante y fenoles totales en frutos de Vitis Vinifera L. “vid”, del valle de cañete. Huacho – 2019. Disponible en: <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/UNJFSC/3069/MILAGROS%20DEL%20PILAR%20VICENTE%20OCHOA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
120. Tema de farmacognosia, plantas medicinales. [Online]. disponible en: <https://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/extractos/>
121. Rene Juste/ Que son los aceites esenciales. [Online],2019. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/que-son-los-aceites-esenciales-1724.html>
122. <https://es.wikipedia.org/wiki/Antimicrobiano>
123. Ana M. Mesa-Vanegas; Carlos A. Gaviria; Felipe Cardona; Jairo A. Sáez-Vega; Silvia Blair Trujillo; Benjamín A. Rojano. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género Calophyllum.[Online] disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?s\\_cript=sci\\_arttext&pid=S1028-47962010000200003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?s_cript=sci_arttext&pid=S1028-47962010000200003)
124. Los aceites esenciales. [Online] Disponible en: [http://es.labohevea.com/downloads/HE\\_es.pdf](http://es.labohevea.com/downloads/HE_es.pdf)
125. <https://definicion.de/absorbancia/>

126. Chacha Gunsha Grace Elizabeth. Evaluación De La Actividad Antimicrobiana “In Vitro” De Extracto Hidroetanólico De Las Hojas De *Taraxacum Officinale* En *Proteus Spp.* Programa De Maestría En Farmacia Clínica Y Hospitalaria/Ambato. Ecuador [Online], 2018. [citado 05/04/2020 02:08 am]. Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8751/1/PIUAMFCH011-2018.pdf>
127. Espadero Bermeo, Sonia Gabriela. Comparación de la actividad antioxidante de cuatro metabolitos secundarios de *Taraxacum officinale* (Diente de león) frente a N-acetil cisteína un antioxidante comercial. Cuenca – Ecuador – [Online], 2018. [citado 05/04/2020 02:16 am]. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/16225/1/UPS-CT007881.pdf>
128. Mercedes De Jesús Asqui Lalón. Actividad Hepatoprotectora Del Extracto De Diente De León (*Taraxacum Officinale*) En Ratas (*Rattus Novergicus*) Con Hepatotoxicidad Inducida Por Tetracloruro De Carbono. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo / Riobamba – Ecuador, 2012
129. Llerena Mendoza, Bety, 2017. Capacidad antioxidante in vitro de extractos hidroalcohólicos de *Agaricus campestris* (L.) Fries. “Kallampa”. Unsaac – Cusco – 2017.
130. Bhorquez fajardo, Ricardo. Determinación De Actividad Antioxidante De Extractos De Hojas De *Diplostephium Phyllicoides* (Kunth) Wedd. Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales U.D.C.A. facultad de ciencia y tecnologia productos naturales u.d.c.a. pronaudca universidad el bosque ingeniería ambiental bogotá D. C. 2016.
131. Pinto, X. Actividad antibacteriana y antimicótica in vitro del aceite esencial de *Thymus vulgaris* L. (tomillo) sobre cepas patógenas Gram positivas y negativas, levaduras y hongos dermatofitos [Tesis], 2007. Arequipa: Universidad Nacional de San Agustín
132. Tello, J. Accion antimicrobiana del *Anacardium occidentale* Sobre *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. Estudio in vitro [Tesis], 2011. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos:Escuela Profesional de

## Odontología

133. INS, S. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima, 2002. Centro de documentación INS.
134. Hirán r. Cabrera suárez, dr. C. Francisco j. Morón rodríguez, msc. María del carmen victoria amador, dra. Ana ibis garcía hernández, dra. C. Lérída acosta de la luz. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de phania matricarioides/ revista cubana de plantas medicinales. laboratorio central de farmacología. Facultad de ciencias médicas "salvador allende". La habana, cuba, [Online], 2012. Disponible en: <Http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n3/pla07312.pdf>
135. Castro, Sumaria. Actividad antibacteriana in vitro de los extractos etanólico y clorofórmico de Flourensia polycephala dillon (Phauka) y elaboración de una forma farmacéutica topica para su evaluación in vivo en infecciones dérmicas por Staphylococcus aureus en ratones albinos. 2011
136. Kuklinski, Claudia. Estudio de las drogas y sustancias de origen natural, 2014 farmacognosia, editorail ediciones omega 2014
137. Chacha Gunsha Grace Elizabeth. Evaluación de la actividad antimicrobiana "In Vitro" de extracto hidroetanólico de las hojas de Taraxacum officinale en Proteus spp. Ambato – Ecuador, 2018 [Online]. [Citado el 12/05/2020 01:19 am]. Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/bitstream/123456789/8751/1/PIUAMFCH 011-2018.pdf>.
138. Huari Guerrero M. Efecto Antibacteriao In Vitro Dela Ceite Esencial De Minthostachys Mollis (Muña) En Streptococcus Mutans: Tesis. Lima: Universidad Nacional Mayor De San Marcos, Facultad De Odontología, 2014.
139. Castro Mattos Miguel Angel. Comparación De Los Compuestos Terpénicos Del Aceite Esencial De Muña (Minthostachys Mollis) Extraídos De Las Hojas Frescas Y Secas. Huancayo 2012.

140. Fuertes C. Y Munguía Y. Estudio Comparativo De *Minthostachys Mollis* (Kunth) Griseb “Muña” De Tres Regiones Peruanas Por Cromatografía De Gases Y Espectrofotometría De Masas. Ciencia E Investigación Vol. IV. Instituto De Investigación De Ciencias Farmacéuticas Y Recursos Naturales. Facultad De Farmacia Y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima-2012.
141. Morales, R. Estudio De La Extracción Y Caracterización De Los Aceites Esenciales Del *Minthostachys Mollis* (Muña) Y De La *Salvia Sagittata* (Hierba Buena). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima. Perú-2008.
142. Beltrán, N. Aceite Esencial De Muña; Conservación De La Papa, Consumo E Inhibición De Microorganismos Patógenos. Universidad Nacional Del Centro Del Perú. Huancayo- 2010.
143. Coronel Cazares, Ivonne Alexandra. Estudio De Las Propiedades Físicas Y Composición Química De Los Aceites Esenciales De Las Hojas De *Peperonia Inaequalifolia* Y *Piper Puvinervulum* Y Del Rizoma De *Renealmia Thyrsoides*. Universidad Politécnica Salesiana Sede Quito. Enero, [Online], 2014. Disponible En: <https://Dspace.Ups.Edu.Ec/Bitstream/123456789/6632/1/Ups-Qt04525.Pdf>
144. Quispe Sanches Joan Pierre. Caracterización Físicoquímica Del Aceite Esencial De La Muña (*Mintostachys Setosa*) Y Su Estudio Antibacteriano. Universidad De Trujillo. Peru, [Online], 2015. Disponible En: [http://Dspace.Unitru.Edu.Pe/Bitstream/Handle/Unitru/3592/Quispe\\_sanches\\_J.Pdf?Sequence=1&isallowed=Y](http://Dspace.Unitru.Edu.Pe/Bitstream/Handle/Unitru/3592/Quispe_sanches_J.Pdf?Sequence=1&isallowed=Y)
145. Torrenegra Alarcón, Miladys. Composición Química y Actividad Antibacteriana del Aceite Esencial de *Minthostachys mollis*. Universidad de Cartagena, 2016. [Online] [Citado el 12/05/2020 01:46 am] Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rori/v20n1/v20n1a08.pdf>.
146. Castañeda Cuadros, Renzo Gerardo, Br. Miranda Velarde, Anthony Boris. Actividad analgésica y antiinflamatoria del extracto etanólico de la raíz de *Taraxacum officinale* Wigg “diente león” en ratones (Mus

- musculus). Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima – Perú, 2018  
[Online] [citado 12/05/2020 01:59 am] Disponible en:  
<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/1660/TITULO%20-%20Castañeda%20Cuadros%2c%20Renzo%20Gerardo.pdf?Sequence=1 &isAllowed=y>.
147. Vallenos C. Julio, Velázquez V. Ross. Procedimientos Operativos Estándar Para Control De Calidad De Producto Terminado. Primera Ed. Regional Ádfdh, Editor. Cusco; 2010
148. Peredo Luna H, Palou Garcia E, Lopez Malo A. Aceites Esenciales: Métodos De Extracción. Temas Selectos De Ingeniería De Alimentos. 2009 Mayo; 3(1)
149. Yapuchura Mamani Roxana. Estudi De Los Componentes Antioxidantes De Las Hojas De Mula (*Minthostachys Mollis* (Kunth) Griseb.) E Inca Muña (*Clinopodium Bolivianum* (Benth.) Kuntze) . Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima- Peru, 2010.
150. Cano C, Bonilla P, Roque M, Ruiz J. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys mollis* (MUÑA): Rev.Peru Med Exp Salud Pública. 2008;25(3):298-301.Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/artrevista/pdf/prueba.2008.3.8.pdf>
151. Montes Enciso, Mary Elizabett. Efecto Genotóxico In Vitro Del Látex De Plantas Medicinales De Uso Dérmico Argemone Mexicana L. “Cardo Santo” Y *Taraxacum Officinale* “Diente De León”. Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga. Ayacucho - Perú [Online], 2017. Disponible en: [Http://Repositorio.Unsch.Edu.Pe/Bitstream/Handle/Unsch/2319/Tesis%20far475\\_Mon.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y](Http://Repositorio.Unsch.Edu.Pe/Bitstream/Handle/Unsch/2319/Tesis%20far475_Mon.Pdf?Sequence=1&Isallowed=Y)
152. Mercedes De Jesús Asqui Lalón. Actividad Hepatoprotectora Del Extracto De Diente De León (*Taraxacum Officinale*) En Ratas (*Rattus Novergicus*) Con Hepatotoxicidad Inducida Por Tetracloruro De Carbono. Escuela Superior Politécnica De Chimborazo / Riobamba – Ecuador, [Tesis], 2012

153. Anna Echevarría. Evaluación De La Capacidad Antioxidante Y Metabolitos Secundarios De Extractos De Dieciséis Plantas Medicinales. Revista Ciencia Unemi. Setiembre, 2016, Pp. 29-35.
154. Ángela Vicharra Morales, 2017. Polifenoles y actividad antioxidante del extracto alcohólico de *Taraxacum officinale*. Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima – Perú, 2017. PAG. 25 – 35
155. Castañeda. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista horizonte médico, Vol N°8 Julio, 2006.
156. Cristian Nicolás Rodríguez Pava<sup>1</sup>, Andrés Gabriel Zarate Sanabria<sup>1</sup>, Ligia Consuelo Sánchez Leal. Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia/ Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca. Colombia 2018. pg. 119-127
157. Andrea, Azuero; Carmita, Jaramillo-Jaramillo; Diana, San Martín; Haydelba, D'Armas. Análisis del efecto antimicrobiano de doce plantas medicinales de uso ancestral en Ecuador. Revista Ciencia UNEMI Vol. 9, N° 20, septiembre 2016, pp. 11 – 18
158. Torrenegra Alarcón Miladys. Composición y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Minthostachys mollis*. Universidad de los llanos, Villavicencio- Colombia, 2016. pg. 69-74
159. Mario Carhuapoma Y, et. al. Actividad Antibacteriana Del Aceite Esencial De *Minthostachys mollis* Griseb “RUYAQ MUÑA”. UNMSM - Ciencia e Investigación, [Tesis], 2009; 12(2): 83-89
160. Carlos Cano, Pablo Bonilla, Mirtha Roque, Julio Rui. Actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthostachys Mollis* (muña). Rev. perú. med. exp. salud publica v.25 n.3 Lima jul./set. 2008
161. Journal of clinical microbiology. Ensayo de difusión en disco basado en agar para pruebas de susceptibilidad de dermatofitos. Citado el 02/11/2020. 17:35 pm. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2953072/>

# ANEXOS

## ANEXO N°01

### UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

• APARTADO POSTAL  
N° 921 - Cusco - Perú

• FAX: 238156 - 238173 - 222512

• RECTORADO  
Calle Tigre N° 127  
Teléfonos: 222271 - 224891 - 224181 - 254398

• CIUDAD UNIVERSITARIA  
Av. De la Cultura N° 733 - Teléfonos: 228661 -  
222512 - 232370 - 232375 - 232226

• CENTRAL TELEFÓNICA: 232398 - 252210  
243835 - 243836 - 243837 - 243838

• LOCAL CENTRAL  
Plaza de Armas s/n  
Teléfonos: 227571 - 225721 - 224015

• MUSEO INKA

Cuesta del Almirante N° 103 - Teléfono: 237380

• CENTRO AGRONÓMICO K'AYRA

San Jerónimo s/n Cusco - Teléfonos: 277145 - 277246

• COLEGIO "FORTUNATO L. HERRERA"

Av. De la Cultura N° 721  
"Estadio Universitario" - Teléfono: 227192

#### EL QUE SUSCRIBE PROFESOR INVESTIGADOR ASOCIADO AL HERBARIO VARGAS (CUZ)

#### CERTIFICA

Que las Señoritas **Eliana Gisella Gutierrez Felix y Liz Indira Olivera Delgado**, Bachilleres de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; me han presentado dos especímenes de plantas herborizadas para su determinación taxonómica, las mismas que al ser diagnosticada por mi experiencia de campo, utilización de claves dicotómicas y consultas con bibliografía especializada, pertenecen a las especies *Minthostachys spicata* y *Taraxacum officinale*, las mismas que en concordancia con el Grupo del Sistema Filogenético de las Angiospermas (Angiosperm Phylogeny Group. APG IV - 2016), presentan la siguiente posición taxonómica:

Clase	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Asteranae
Orden	Asterales
Familia	Lamiaceae
Género	<i>Minthostachys</i>
Especie	<b><i>Minthostachys spicata</i></b> (Benth.) Epling

**Sinonimias:** *Bystropogon glabrescens* Benth., *Bystropogon spicatus* Benth.

**Nombres comunes:** "Rap'i muña", "Q'eshua muña", "Papa muña".

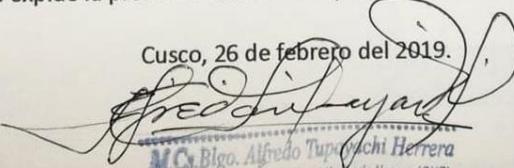
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae
Superorden	Asteranae
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Taraxacum</i>
Especie	<b><i>Taraxacum officinale</i></b> F. H. Wigg.

**Sinonimias:** *Leontodon taraxacum* L., *Leontodon vulgare* Lam. *Taraxacum dens-leonis* Desf. *T. mexicanum* DC., *T. officinale* var. *palustre* Brytt, *T. retroflexum* Lindb., *T. subspatulatum* A. J. Richard, *T. silvanicum* R. Doll, *T. taraxacum* (L) H. Karst, *T. vulgare* Schrank.

**Nombres comunes:** Misqui pilli, "Pilli pilli", "Achicoria", "Diente de león" "Amargón".

Se expide la presente certificación para fines de investigación.

Cusco, 26 de febrero del 2019.

  
M.Cs. Bgo. Alfredo Tupacachi Herrera  
Prof. Investigador Asociado al Herbario Vargas (CUZ)

## ANEXO Nº 02

### CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA CEPA *Escherichia coli* ATCC 25922



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>  <b>Microorganism Name:</b> Escherichia coli  <b>Catalog Number:</b> 0335  <b>Lot Number:</b> 335-348**  <b>Reference Number:</b> ATCC® 25922™*  <b>Purity:</b> Pure  <b>Passage from Reference:</b> 3</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2020/2/29  <b>Release Information:</b>  <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon  <b>Release Date:</b> 2018/3/2</p>
<b>Performance</b>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                  2 colony types, both are gray &amp; beta hemolytic; one is circular to irregular, convex, slightly erose edge &amp; smooth; other is larger, irregular, low convex, erose edge &amp; rough</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                  Gram negative straight rod</p>	<p><b>Medium:</b>                  SBAP</p> <p><b>Method:</b>                  Gram Stain (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MALDI-TOF (1)                  See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                  (1) Oxidase (Kovacs): negative                  Beta-glucuronidase (E. coli Broth w/MUG): positive                  (1) Ampicillin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 22 mm                  (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 19 - 26 mm                  (1) SXT (1.25/23.75 mcg - Disk Susceptibility): 23 - 29 mm</p> <div style="text-align: center; margin-top: 20px;"> <p>Amanda Kuperus                      Quality Control Manager                      AUTHORIZED SIGNATURE</p> </div>
<p><small>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start;"> <div style="text-align: center;"> <p>ATCC Licensed Derivative</p> </div> <div style="font-size: small;"> <p>(*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.</p> <p>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</p> </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: flex-start; margin-top: 10px;"> <div style="text-align: center;"> <p>TESTING CERT #2655.01</p> </div> </div>	

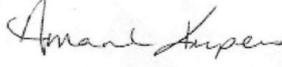
ANEXO Nº 03

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA CEPA *Pseudomonas aeruginosa*  
ATCC 27853



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Pseudomonas aeruginosa <b>Catalog Number:</b> 0353 <b>Lot Number:</b> 353-331** <b>Reference Number:</b> ATCC® 27853™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2019/9/30 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Christine Condon <b>Release Date:</b> 2017/10/12
--	--

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Two colony types: Large, flat, circular to irregular shaped, gray with silver sheen(98%); And small and compact <b>Microscopic Features:</b> Straight or slightly curved gram negative rod	<b>Medium:</b> SBAP  <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Oxidase (Kovacs): positive (1) Motility B Medium: positive (1) Gentamicin (10 mcg - Disk Susceptibility): 16 - 21 mm   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

\*\*Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.

Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.

⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



(\*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Microbiologics, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC®

(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.



# ANEXO Nº 04

## CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA CEPA *Cándida albicans* ATCC

90028

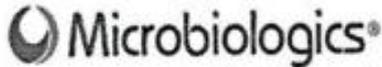


Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> <b>Microorganism Name:</b> Candida albicans <b>Catalog Number:</b> 0264 <b>Lot Number:</b> 264-32** <b>Reference Number:</b> ATCC® 90028™* <b>Purity:</b> Pure <b>Passage from Reference:</b> 3	<b>Expiration Date:</b> 2020/3/31 <b>Release Information:</b> <b>Quality Control Technologist:</b> Mary L Bowman <b>Release Date:</b> 2018/5/31
<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, circular, convex, entire edge, cream, glistening, opaque. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoid, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System:</b> MALDI-TOF (1) See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamydospore production: positive Fluconazole (Etest MIC - mcg/mL): 0.125 - 0.5   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE
<p>**Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</p> <p>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</p> <p>⚠ Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</p> <p>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</p> <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div data-bbox="284 1265 478 1400">   <b>ACCREDITED</b>                  REFERENCE MATERIAL PRODUCER                  CERT #2655.02             </div> <div data-bbox="284 1422 422 1467">  </div> <div data-bbox="518 1400 1316 1444">                 (*) The ATCC Licensed Derivative Emblem, the ATCC Licensed Derivative word mark and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC, Microbiology, Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.             </div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-between; margin-top: 20px;"> <div data-bbox="284 1489 478 1624">   <b>ACCREDITED</b>                  TESTING CERT #2655.01             </div> <div data-bbox="518 1478 861 1500">                 (1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.             </div> </div>	

ANEXO Nº 05

CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA CEPA *Trichopyton rubrum* ATCC 28188



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p><b>Specifications</b>                  Microorganism Name: <i>Trichopyton rubrum</i>                  Catalog Number: 0444                  Lot Number: 444-79                  Reference Number: ATCC® 28188™<sup>+</sup>                  Purity: &lt; 0.1% Total Pellet CFU                  Recovery: &gt; 100 CFUs per Pellet                  Passage from Reference: 4</p>	<p><b>Expiration Date:</b> 2018/1/31  <b>Release Information:</b>                  Quality Control Technologist: Tracy A Blenker                  Release Date: 2016/4/28</p>
<p><b>Performance</b></p>	
<p><b>Macroscopic Features:</b>                  Large, white colonies with "fuzzy" appearance and smaller, dark wine-red colonies which turn white with dark wine-red reverse as culture ages.</p> <p><b>Microscopic Features:</b>                  Microconidia are abundant; macroconidia are rare. Microconidia are thin, clavate, borne laterally on undifferentiated hyphae or on short stalks. Macroconidia are typically long, narrow, cylindrical with rounded apices, 3-8 celled with thin smooth walls.</p>	<p><b>Medium:</b>                  Malt Extract Agar</p> <p><b>Method:</b>                  Lactophenol Blue (1)</p>
<p><b>ID System:</b> MEI None                  See attached ID System results document.</p>	<p><b>Other Features/ Challenges: Results</b>                  Dermatophyte Test Medium: positive (good growth at 7 days with agar turning deep pink)</p> <div style="text-align: center;">                   Brad Goskowitz, President                  AUTHORIZED SIGNATURE             </div>
<p><small>Disclaimer: The last digit(s) of the lot number appearing on the packing slip is merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number.</small></p> <p><small>Note for Vitek®: Although the Vitek® panel uses many conventional tests, the unique environment of the card, combined with the short incubation period, may produce results that differ from published results obtained by other methods.</small></p> <p><small>Refer to the enclosed product insert for instructions, intended use and hazard/safety information.</small></p> <p><small>Individual products are traceable to a recognized culture collection.</small></p> <p style="text-align: center;"><small>(1) These tests are accredited to ISO/IEC 17025:2005.</small></p> <div style="text-align: center;">                   TESTING CERT #2655.01             </div>	

# ANEXO Nº 06

## CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL DPPH

# Calbiochem®



Certificate of Analysis

### DPPH, Free Radical - CAS 1898-66-4 - Calbiochem

**Batch Number:** 2803502  
**Material Number:** 300267-50MG  
**Molecular Formula:** C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>N<sub>5</sub>O<sub>6</sub>  
**Molecular Weight:** 394.3  
**RTECS Number:** MW3250000  
**CAS Number:** 1898-66-4

Quality Release Date: 17-AUG-2016  
Recommended Retest Date: 31-MAY-2018

#### Analytical Data

Test	Tolerance	Result
<b>Solubility:</b>		DMF (10 mg/ml) or EtOH (5 mg/ml)
<b>Color:</b>		Black
<b>Form:</b>		Solid
<b>Purity by Elemental analysis:</b>	≥90.0 %	93.5 %
<b>Carbon:</b>	50.00 % - 58.00 %	55.20 %
<b>Nitrogen:</b>	16.00 % - 19.00 %	16.60 %

**Storage and Handling:** -20°C

This lot conforms to specifications established by EMD Millipore Corporation for this product.

24 February 2017

Quality Control / Assurance

Date

Prices and availability are subject to change. ©Copyright 2017 EMD Millipore Corporation, an affiliate of Merck KGaA, Darmstadt, Germany. All rights reserved. Each product is sold with a limited warranty, which is provided with each purchase. Each product is intended to be used for research purposes only. It is not to be used for drug or diagnostic purposes, nor is it intended for human use. EMD Millipore products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without written approval of EMD Millipore.

EMD Millipore Corporation | 28820 Single Oak Dr., Temecula, CA 92590

Technical Support NA +1-800-221-1975 | email: [www.millipore.com/techservices](http://www.millipore.com/techservices) | [www.calbiochem.com](http://www.calbiochem.com)

Technical Support All Other Countries - Contact Your Local Office

**FOR RESEARCH USE ONLY.**

Not for use in diagnostic procedures. Not for human or animal consumption. Purchase of this product does not include any right to resell or transfer, either as a stand-alone product or as a component of another product. Any use of this Product for purpose other than research is strictly prohibited.

Calbiochem and all other trademarks, unless specifically identified as belonging to a third party, are owned by Merck KGaA, Darmstadt, Germany

## ANEXO Nº 07

## CERTIFICADO DE ANÁLISIS DEL ÁCIDO ASCÓRBICO



## Certificate of Analysis

1.00468.0100 L(+)-Ascorbic Acid for analysis EMSURE® ACS,ISO,Reag. Ph Eur  
Batch K48743968

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (iodometric)	99.7 - 100.5	%	99.9	%
Identity (IR-spectrum)	conforms		conforms	
Appearance	white or almost white, crystalline powder		white or almost white, crystalline powder	
Appearance of solution (50 g/l CO <sub>2</sub> -free water)	clear (< 3 NTU) and not so intense in colour than reference solution BY <sub>1</sub>		clear (< 3 NTU) and not so intense in colour than reference solution BY <sub>1</sub>	
pH (50 g/l CO <sub>2</sub> -free water)	2.1 - 2.6		2.3	
Spec. rotation [α] <sub>D</sub> (100 g/l, water)	+20.5 - +21.5	°	+20.9	°
Chloride (Cl)	≤ 50	ppm	≤ 50	ppm
Sulphate (SO <sub>4</sub> )	≤ 20	ppm	≤ 20	ppm
Cu (Copper)	≤ 5	ppm	≤ 5	ppm
Fe (Iron)	≤ 2	ppm	≤ 2	ppm
Heavy metals (as Pb)	≤ 10	ppm	≤ 10	ppm
Oxalic acid	≤ 0.2	%	≤ 0.2	%
Related substances (HPLC) (Impurity C)	≤ 0.15	%	0.06	%
Related substances (HPLC) (Impurity D)	≤ 0.15	%	< 0.01	%
Related substances (HPLC) (unspecified impurities singly)	≤ 0.10	%	< 0.05	%
Related substances (HPLC) (sum of impurities (except impurity A and D))	≤ 0.2	%	< 0.1	%
Sulfated ash (800 °C)	≤ 0.05	%	≤ 0.05	%
Loss on Drying (105°C)	≤ 0.1	%	< 0.1	%

Date of release (DD.MM.YYYY) 15.02.2017  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.01.2019

Dr. Stefan Frey  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

## ANEXO 08

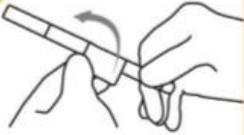
### ACTIVACIÓN DE CEPAS ATCC

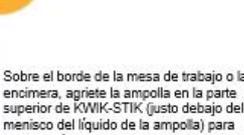
**KWIKSTIK™**

**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 transféralo 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.
- 

Desoarte 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).

## ANEXO 09

### Ficha de recolección de la especie vegetal

<b>Especie vegetal:</b> <i>Taraxacum officinale</i> (diente de león)	
Fecha:...../...../.....	
Hora:.....:.....:.....	
<b>Características</b>	<b>Detalles</b>
<b>Nombre científico:</b>	<i>Taraxacum officinale</i>
<b>Nombre Común:</b>	<i>(diente de león)</i>
<b>Familia:</b>	<i>Asteraceae</i>
<b>Género:</b>	<i>Taraxacum</i>
<b>Especie:</b>	<i>Taraxacum officinale</i>
<b>Lugar de recolección:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– <b>Región:</b> cusco</li> <li>– <b>Provincia:</b> Urubamba</li> <li>– <b>Distrito:</b> Yucay</li> </ul>
<b>Partes usadas:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Raíz ( )</li> <li>– Tallo (x)</li> <li>– Hojas (X)</li> <li>– Flores ( )</li> <li>– Frutos ( )</li> <li>– Corteza ( )</li> </ul>
<b>Recolector:</b>	Br. Liz Indira Olivera Delgado Br. Giselle Felix Gutierrez.
<b>Observaciones</b> ..... ..... ..... .....	

**Fuente:** Elaboración propia, 2020

<b>Especie vegetal:</b> <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña)	
Fecha:...../...../.....	
Hora:.....:.....:.....	
<b>Características</b>	<b>Detalles</b>
<b>Nombre científico:</b>	<i>Minthostachys Spicata</i>
<b>Nombre Común:</b>	( <i>Q'eshua muña</i> )
<b>Familia:</b>	<i>Lamiaceae labiatae</i>
<b>Género:</b>	<i>Minthostachys</i>
<b>Especie:</b>	<i>Minthostachys Spicata</i> (Beth.)
<b>Lugar de recolección:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– <b>Región:</b> cusco</li> <li>– <b>Provincia:</b> Urubamba</li> <li>– <b>Distrito:</b> Yucay</li> </ul>
<b>Partes usadas:</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>– Raíz ( )</li> <li>– Tallo (x)</li> <li>– Hojas (X)</li> <li>– Flores ( )</li> <li>– Frutos ( )</li> <li>– Corteza ( )</li> </ul>
<b>Recolector:</b>	Br: Liz Indira Olivera Delgado Br. Giselle Felix Gutierrez.
<b>Observaciones</b>	
.....	
.....	
.....	
.....	

**Fuente:** Elaboración propia, 2020

## ANEXO 10

**Ficha de recolección para la determinación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico al 96 % de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**

<b>HALOS DE INHIBICIÓN (mm) DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE LAS HOJAS Y TALLOS DE <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león) y DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña) FRENTE A CEPA ATCC DE <i>Escherichia coli</i>, <i>Pseudomona aeruginosa</i>, <i>Cándica albicans</i> y <i>T.rubrum</i>, una para cada una.</b>									
Fecha:...../...../.....					Hora:.....:.....:.....				
N°	Concentración del extracto en (mg/mL)	Extracto etanólico al 96% DE <i>Taraxacum officinale</i> (Diente de león)				Aceite esencial de <i>Minthostachys Spicata</i> (Q'eshua muña)			
		I(mm)	II (mm)	III (mm)	Promedio (mm)	I(mm)	II (mm)	III (mm)	Promedio (mm)
1									
2									
3									
4									
5									
Fármaco Patrón									

**Fuente:** Elaboración propia, 2020

## ANEXO 11

### DETERMINACIÓN FITOQUÍMICA CUALITATIVA

#### 1. ENSAYO DE DRAGENDORFF

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, el extracto seco debe redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).<sup>23</sup>

#### 2. ENSAYO DE MAYER

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++).

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.<sup>23</sup>

#### 3. ENSAYO DE WAGNER

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.<sup>23</sup>

#### 4. ENSAYO DE LIEBERMANN-BURCHARD

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del

androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- Rosado-azul muy rápido.
- Verde intenso-visible, aunque rápido.
- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. **IMPORTANTE:** Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloración azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.<sup>23</sup>

## **5. ENSAYO DE BALJET**

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Cumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo,

considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.<sup>23</sup>

## **6. ENSAYO DE CATEQUINAS**

Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo.<sup>23</sup>

## **7. ENSAYO DE RESINAS**

Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.<sup>23</sup>

## **8. ENSAYO DE LA ESPUMA**

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que, si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.<sup>23</sup>

## **9. ENSAYO DEL CLORURO FÉRRICO**

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

## **10. ENSAYO DE LA NINHIDRINA**

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5- 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.<sup>23</sup>

## **11. ENSAYO DE SHINODA**

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.<sup>23</sup>

## **12. ENSAYO DE ANTOCIANIDINAS**

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 min. con 1 mL de HCL (C). Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo.<sup>23</sup>

## **13. ENSAYO DE FEHLING**

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2

mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma: Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL. Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar. También pueden realizarse otros ensayos no comprendidos en este esquema de tamizaje, para la detección de otros compuestos.<sup>23</sup>

#### **14. ENSAYOS DE PRINCIPIOS AMARGOS Y ASTRINGENTES**

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar.<sup>23</sup>

## ANEXO 12

### PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DE DPPH

1. Se pesó 3.9 mg de DPPH y se aforó en 100 mL de etanol absoluto.
2. Disoluciones:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

- Solución madre: 3.9 mg/100 mL
- $C_1 \times 100 \text{ mL} = 3.9 \text{ mg} \times 75 \text{ mL}$   
 $C_1 = 2.925 \text{ mg/100 mL}$
- $C_2 \times 75 \text{ mL} = 2.925 \text{ mg} \times 50 \text{ mL}$   
 $C_2 = 1.95 \text{ mg/100 mL}$
- $C_3 \times 50 \text{ mL} = 1.95 \text{ mg} \times 25 \text{ mL}$   
 $C_3 = 0.975 \text{ mg/100 mL}$

3. Resultados de absorbancias:

- Solución madre: 1.060 de absorbancia
- $C_1 = 0.822$  de absorbancia
- $C_2 = 0.549$  de absorbancia
- $C_3 = 0.286$  de absorbancia

4. Tomando como disolución ideal para el procedimiento la concentración 2 (2.925 mg/100 mL) por estar dentro de los rangos permitidos de 0.8 – 1 de absorbancia para una longitud de onda a 517 nm.

## ANEXO 13

### PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO

1. Se pesó 20 mg de Ácido ascórbico y se aforó en 10 mL de etanol absoluto.
2. Disoluciones:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

- Solución madre: 20 mg/10 mL
- $20 \text{ mg} \times V_1 = 10 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_1 = 5 \text{ mL}$
- $10 \text{ mg} \times V_2 = 5 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_2 = 5 \text{ mL}$
- $5 \text{ mg} \times V_3 = 2.5 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_3 = 5 \text{ mL}$

## ANEXO 14

### CUADRO PARA LA PREPARACIÓN DE CURVA DE CALIBRACIÓN DEL PATRÓN ÁCIDO ASCÓRBICO

TUBO Nº	CONCENTRACIÓN DE PATRÓN	BLANCO	VOLUMEN DPPH	VOLUMEN PATRÓN
1	Blanco (etanol absoluto)	2 mL	-	-
2	2 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
3	1 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
4	0.5 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

## ANEXO 15

### PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *TARAXACUM OFFICINALE* (DIENTE DE LEÓN) PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

1. Se pesó 40 mg de extracto y se aforó en 10 mL de etanol absoluto.

2. Disoluciones:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

- Solución madre: 40 mg/10 mL
- $40 \text{ mg} \times V_1 = 20 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_1 = 5 \text{ mL}$
- $20 \text{ mg} \times V_2 = 10 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_2 = 5 \text{ mL}$
- $10 \text{ mg} \times V_3 = 5 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_3 = 5 \text{ mL}$
- $5 \text{ mg} \times V_4 = 2.5 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_4 = 5 \text{ mL}$
- $2.5 \text{ mg} \times V_5 = 1.25 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_5 = 5 \text{ mL}$

## ANEXO 16

### CUADRO PARA LA PREPARACIÓN DE CURVA DE CALIBRACIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *TARAXACUM OFFICINALE* (DIENTE DE LEÓN) PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

TUBO Nº	CONCENTRACIÓN DE PATRÓN	BLANCO	VOLUMEN DPPH	VOLUMEN EXTRACTO
1	Blanco (etanol absoluto)	2 mL	-	-
2	4 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
3	2 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
4	1 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
5	0.5 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
6	0.25 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
7	0.125 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

## ANEXO 17

**PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTOSTACHYS SPICATA (Q'ESHUA MUÑA) PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

1. Se pesó 320 mg de aceite y se aforó en 10 mL de etanol absoluto.

2. Disoluciones:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

- Solución madre: 320 mg/10 mL
- $320 \text{ mg} \times V_1 = 160 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_1 = 5 \text{ mL}$
- $160 \text{ mg} \times V_2 = 80 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_2 = 5 \text{ mL}$
- $80 \text{ mg} \times V_3 = 40 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_3 = 5 \text{ mL}$
- $40 \text{ mg} \times V_4 = 20 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_4 = 5 \text{ mL}$
- $20 \text{ mg} \times V_5 = 10 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_5 = 5 \text{ mL}$
- $10 \text{ mg} \times V_6 = 5 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_6 = 5 \text{ mL}$
- $5 \text{ mg} \times V_7 = 2.5 \text{ mg} \times 10 \text{ mL} \Rightarrow V_7 = 5 \text{ mL}$

**ANEXO 18**

**CUADRO PARA LA PREPARACIÓN DE CURVA DE CALIBRACIÓN DEL DEL ACEITE ESENCIAL DE MINTOSTACHYS SPICATA (Q'ESHUA MUÑA) PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

TUBO Nº	CONCENTRACIÓN DE PATRÓN	BLANCO	VOLUMEN DPPH	VOLUMEN ACEITE
1	Blanco (etanol absoluto)	2 mL	-	-
2	32 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
3	16 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
4	8 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
5	4 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
6	2 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
7	1 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL
8	0.5 mg/mL	-	1.5 mL	0.5 mL

FUENTE: Elaboración Propia, 2020

## ANEXO 19

# PREPARACIÓN DE AGAR MACCONCKEY PARA ACTIVACIÓN DE CEPA ATCC 25922 DE *ESCHERICHIA*

© Liofilchem® - MacConkey Agar - Rev.0.1 / 23.10.2015

Instrucciones de Uso  
ESPAÑOL



### MacConkey Agar

Medio selectivo y diferencial para la detección de Enterobacteriaceae a partir de muestras clínicas y otros materiales de acuerdo a USP/EP/JP.

#### DESCRIPCIÓN

MacConkey Agar es un medio ligeramente selectivo que proporciona una excelente diferenciación entre bacilos entéricos Gram-negativos lactosa-fermentantes y no fermentantes, de heces, orina, alimentos, aguas residuales y otros materiales de importancia sanitaria.

Este medio sigue las recomendaciones del método armonizado de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), Farmacopea Europea (EP) y Farmacopea Japonesa (JP) para la detección de *E. coli* en productos no estériles.

#### FÓRMULA

	(g/l)
Digerido Pancreático de Gelatina	17.0
Peptona de Carne	1.5
Peptona de Caseína	1.5
Lactosa	10.0
Cloruro Sódico	5.0
Sales Biliares	1.5
Agar	15.0*
Rojo Neutro	0.03
Violeta de Cristal	0.001
pH final 7.1 ± 0.2 a 25°C	

\* Ajustado según la consistencia del gel para alcanzar las especificaciones de actuación.

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El digerido pancreático de gelatina, y las peptonas suministran los aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La lactosa es el carbohidrato fermentable. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico del medio. Las sales biliares y el violeta de cristal son agentes selectivos que inhiben a los organismos Gram-positivos, permitiendo el crecimiento de los Gram-negativos. El agar es el agente solidificante. El rojo neutro es el indicador de pH.

#### PREPARACIÓN

<u>Medio deshidratado</u>	Suspender 51.5 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
<u>Medio en botellas</u>	Disolver el contenido de la botella en un baño con agua a 100°C (con el tapón ligeramente desenroscado) hasta su completa disolución. Comprobar la homogeneidad del medio disuelto, girar la botella si es necesario para ayudar a la homogeneización. Enfriar a 45-50°C, mezclar bien evitando la formación de burbujas y distribuir en placas Petri de forma aseptica.

#### PROCEDIMIENTO DEL TEST

Inocular las placas directamente por estriación en el agar o extender la muestra procedente de un medio pre-enriquecido. Incubar en aerobiosis a 35 ± 2°C durante 18-24 h

Para aislar *E. coli* en productos farmacéuticos, los métodos armonizados de las farmacopeas USP/EP/JP recomiendan realizar antes dos pasos de enriquecimiento inoculando la muestra en Tryptic Soy Broth (ref. 452080) y posteriormente en MacConkey Broth (ref. 494000). Realizar un subcultivo en una placa de MacConley Agar e incubar aerobicamente a 30-35°C durante 18-72 horas.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Los organismos no fermentantes de la lactosa, como *Salmonella*, *Shigella* y *Proteus* spp, forman colonias claras o incoloras.

Los organismos fermentantes de la lactosa, como *E. coli* y *Klebsiella* spp, forman colonias rojo-rosáceas con o sin zona de precipitado de bilis.

Los Enterococci, Staphylococci y otras bacterias Gram-positivas están inhibidas parcial o completamente.

#### ASPECTO

Medio deshidratado: suelto, homogéneo, beige rosáceo.

Medio preparado: ligeramente opalescente, rojo - rosáceo.

#### ALMACENAMIENTO

El polvo deshidratado es muy higroscópico, almacenar a 10-30°C, en un entorno seco, en su frasco original correctamente cerrado. Almacenar las botellas y las placas preparadas a 10-25°C fuera del contacto de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

#### VIDA ÚTIL

Medio deshidratado: 4 años.

Medio en botellas: 2 años.

Placas preparadas: 6 meses.

## ANEXO 20

# PREPARACIÓN DE AGAR CETRIMIDE PARA ACTIVACIÓN DE CEPA ATCC 27853 DE *PSEUDOMONA AERUGINOSA*



Dehydrated culture medium  
Rev. 1 - 3<sup>rd</sup> Ed. 2004  
Page 1 of 2

### PSEUDOMONAS (CETRIMIDE) AGAR

Selective medium for *Pseudomonas aeruginosa* isolation, according to European Pharmacopoeia.

#### TYPICAL FORMULA (g/l)

Pancreatic digest of gelatin	20.0
Magnesium Chloride	1.4
Dipotassium Sulphate	10.0
Cetrimide	0.3
Agar	15.0

Final pH = 7.2 ± 0.2 at 25 °C.

#### DIRECTIONS

Suspend 46.7 g of powder in 990 ml of distilled or deionized water.

Add 10 ml of Glycerol supplement (code 80021).

Heat until completely dissolved.

Sterilize in autoclave at 121 °C for 15 minutes.

Dispense in petri dishes.

#### DESCRIPTION

PSEUDOMONAS (CETRIMIDE) AGAR is recommended by the European Pharmacopoeia for the isolation and identification of *Pseudomonas* strains.

The medium promotes the production of fluorescein (pyoverdine), a green-yellow fluorescent pigment that oxidizes to yellow. It is water-soluble and, unlike pyocyanin (blue-green pigment), is not soluble in chloroform. The pigment diffuses throughout the medium and the fluorescent yellow-green color is observed.

Gelatin pancreatic digest provide the nutrient growth factors: nitrogen, vitamins, minerals and amino acids. Glycerol is the carbon source. Magnesium chloride and dipotassium sulfate enhance the production of pyocyanin, pyoverdine and fluorescein. Cetrimide is the selective agent as it inhibits the growth of the accompanying microbial flora.

#### TECHNIQUE

Inoculate the medium using the streak plate method to obtain isolated colonies.

Incubate for 18-48 hours at 36 ± 1 °C.

Examine for the presence of a good growth and pigment production.

*Pseudomonas aeruginosa* colonies will be green to blue-green with pigment that diffuses into the medium.

The identification of *Pseudomonas aeruginosa* is completed by performing oxidase test and the differential tests for the production of fluorescein and pyocyanin on, respectively, Pseudomonas Agar F (code 610309) and Pseudomonas Agar P (code 610310).

#### QUALITY CONTROL

##### Dehydrated medium

Appearance: free-flowing, homogeneous.

Color: very light beige.

##### Prepared medium

Appearance: slightly opalescent, firm.

Color: light amber.

Incubation conditions: 36 ± 1 °C for 18-48 hours.

Microorganism	ATCC	Growth	Appearance
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9027	good	green to blue-green
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	good	green to blue-green
<i>Escherichia coli</i>	25922	poor	



LIOFILCHEM s.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto D.A. (TE) - ITALY

Phone +390858930745 Fax +390858930330

Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net



## ANEXO 21

# PREPARACIÓN DE AGAR SABOURAUD PARA ACTIVACIÓN DE CEPA ATCC 90028 DE *CÁNDIDA ALBICANS* Y 28188 DE *TRICHOPYTON RUBRUM*

© Liofilchem® - Sabouraud Dextrose Agar - Rev.0 / 20.11.2015

Instrucciones de Uso  
ESPAÑOL



### Sabouraud Dextrose agar

Medio para el cultivo, aislamiento y conteo de hongos y levaduras a partir de diferentes materiales, de acuerdo con EN ISO 11133 y USP/EP/JP.

#### DESCRIPCIÓN

El Sabouraud Dextrose Agar (SDA) es un medio de aislamiento no selectivo utilizado para el crecimiento y mantenimiento de hongos patógenos y no patógenos a partir de muestras clínicas y no clínicas. Se utiliza también para la recuperación y conteo de hongos y levaduras en control ambiental.

Este medio sigue la ISO 11133 para análisis microbiológicos de alimentos humanos, animales y análisis de agua, donde se describe como el medio de referencia para llevar a cabo un análisis cuantitativo en medios de cultivo destinado para los hongos.

Su formulación sigue la recomendaciones de los métodos armonizados de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), Farmacopea Europea (EP) y Farmacopea Japonesa (JP), para el control microbiológico de productos no estériles. Este medio también está disponible en placas Petri con envoltura triple, aconsejadas para zonas restringidas aisladas como salas blancas.

FÓRMULA	(g/l)
Digerido Pancreático de Caseína	5.0
Digerido Péptico de Tejido Animal	5.0
Dextrosa	40.0
Agar	15.0

pH Final 5.6 ± 0.2 at 25°C

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El digerido pancreático de caseína y el digerido péptico de tejido animal suministran los aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La Dextrosa es la fuente de energía. El agar es el agente solidificante. La elevada concentración de dextrosa y la acidez del pH del medio, confieren la selectividad por los hongos.

Se puede añadir cloranfenicol como suplemento para aumentar la inhibición bacteriana y recuperación de dermatofitos.

#### PREPARACIÓN

**Medio deshidratado** Suspender 65 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**Medio en botellas** Disolver el contenido de la botella en un baño con agua a 100°C (con el tapón ligeramente desenroscado) hasta su completa disolución. Comprobar la homogeneidad del medio disuelto, girar la botella si es necesario para ayudar a la homogeneización. Enfriar a 45-50°C, mezclar bien evitando la formación de burbujas y distribuir en placas Petri de forma aseptica.

#### PROCEDIMIENTO DEL TEST

##### Uso clínico

Cultivar la muestra tan pronto como sea posible después de haberla recibido en el laboratorio para obtener colonias aisladas.

Los tubos semitendidos se usan sobre todo con cultivos puros para mantenimiento y otros objetivos.

Las condiciones de incubación pueden variar según el tipo de muestra y los microorganismos que busquemos.

##### Uso alimentario humano, animal y análisis de aguas

Seguir la EN ISO 11133 para instrucciones particulares.

##### Uso industrial

###### Control de productos no estériles

Seguir el procedimiento descrito en los capítulos armonizados de la Farmacopea.

###### Control pasivo del aire

Retirar la tapa de la placa y dejar el medio expuesto al aire durante un tiempo no superior a 4 horas. Las placas se pueden posicionar de acuerdo al esquema 1/1/1 (durante 1 h, aproximadamente 1 sobre el suelo, y por lo menos a 1 m de las paredes y otros obstáculos).

###### Superficies y control de la higiene personal

Utilizar un tampon para muestras para superficies irregulares o utilizar el modelo de muestreo 10x10 (ref. 96762) para controlar un área definida de la superficie a controlar. Inocular una placa de 90 mm por estricción frotando el tampon contra la superficie agarizada. Además, el medio es aconsejable para el control de la higiene personal para detectar contaminaciones microbianas en guantes o manos.

Incubar las placas a 20-25°C durante 5-7 días ó a 30-35°C durante 24-48 horas.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La transferencia del crecimiento desde tubos semitendidos a placas Petri puede ser necesaria para obtener cultivos puros de hongos. Examinar las colonias con morfología característica. Tests bioquímicos pueden ser necesarios para una identificación final.

El conteo total combinado de hongos/levaduras (TYMC) se considera como similar al número CFU encontrado por placa.

Cuando se relata un criterio de calidad microbiológica se interpreta como se explica a continuación:

- 10<sup>1</sup> CFU: conteo máximo aceptable = 20;
- 10<sup>2</sup> CFU: conteo máximo aceptable = 200;
- 10<sup>3</sup> CFU: conteo máximo aceptable = 2000, y así sucesivamente.

Incubar las placas a 20-25°C durante 5-7 días ó a 30-35°C durante 24-48 horas.

## ANEXO 22

# PREPARACIÓN DE CALDO BHI (BRAIN HEART INFUSION) PARA LA CONSERVACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS

© Liofilchem® - Brain Heart Infusion Broth - Rev.0.1 / 12.04.2017

Instrucciones de Uso  
ESPAÑOL



### Brain Heart Infusion Broth

Medio líquido para el cultivo de diferentes organismos exigentes y para la detección de estafilococos, de acuerdo a la ISO 6888.

#### DESCRIPCIÓN

Brain Heart Infusion Broth es un medio líquido utilizado para el cultivo de microorganismos exigentes y no exigentes, incluyendo bacterias aeróbicas y anaeróbicas, desde muestras clínicas, ambientales y alimentos.

Este medio se aconseja para el cultivo de estafilococos coagulasa-positivos staphylococci para el test de la coagulasa en plasma de acuerdo a la ISO 6888.

Brain Heart Infusion Broth está recomendado por la APHA para el análisis de aguas potables y aguas de descarga y por la CLSI para la preparación de los inóculos para los estudios de susceptibilidad antimicrobiana

FÓRMULA	(g/l)
Digerido Enzimático de Tejidos Animales	10.0
Infusión Deshidratada de Cerebro de Ternera	12.5
Infusión Deshidratada de Corazón de Ternera	5.0
Glucosa	2.0
Cloruro Sódico	5.0
Disodio Hidrógeno Fosfato , Anhidro	2.5

pH Final 7.4 ± 0.2 a 25°C

#### PRINCIPIO DEL MÉTODO

El digerido enzimático y la infusión de corazón y cerebro suministran los aminoácidos, nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de los microorganismos. La Glucosa es la fuente de carbohidratos. El cloruro sódico mantiene el equilibrio osmótico del medio. El Disodio hidrógeno fosfato es el tampón.

#### PREPARACIÓN

Medio deshidratado Suspender 37 g del polvo deshidratado en 1 litro de agua destilada o desionizada. Mezclar bien. Calentar hasta la ebullición removiendo frecuentemente hasta la completa disolución. Distribuir en los recipientes finales. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

#### PROCEDIMIENTO DEL TEST

Si se obtiene el cultivo directamente desde un tampón, introducir éste en el caldo después de ser inoculado en una placa Petri. Para muestras líquidas, transferir un asa de la muestra al caldo usando un asa estéril o pipeteando asepticamente la muestra a un medio en placa y al caldo. Examinar el crecimiento después de 24-72 horas de incubación.

Nota: Se recomienda que para la incubación anaeróbica el medio líquido debería reducirse antes de ser inoculado, sometiendo los tubos (con tapones parcialmente desenroscados) a condiciones anaeróbicas durante 18-24 horas. Alternativamente, el medio se puede reducir llevándolo hasta 100°C en un baño. Desenroscar los tapones parcialmente antes de calentar y cerrar cuando se enfríen a la temperatura ambiente.

Para realizar las pruebas de la coagulasa en plasma, según la ISO 6888, inocular los tubos de Brain Heart Infusion Broth con una colonia seleccionada desde placas de Baird Parker Agar (ref. 10020). Incubar a 37 ± 1°C durante 24 ± 2 horas. Añadir 0.1 ml de cada cultivo a 0.3 ml de plasma de conejo. Examinar después de 4-6 horas de incubación a 37°C para comprobar la coagulación del plasma.

#### INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

La turbidez indica crecimiento microbico.

El test de la coagulasa se considera positivo si el volumen coagulado es superior a la mitad del volumen inicial del líquido.

#### ASPECTO

Medio deshidratado: suelto, homogéneo, beige claro.

Medio preparado: claro, ámbar

#### ALMACENAMIENTO

El polvo deshidratado es muy higroscópico, almacenar a 10-30°C, en un entorno seco, en su frasco original correctamente cerrado. Almacenar las botellas y Los tubos a 10-25°C fuera del contacto de la luz. No utilizar el producto fuera de la fecha de caducidad descrita en la etiqueta o si el producto presenta alguna muestra de deterioro o contaminación.

#### SHELF LIFE

Medio deshidratado: 4 años.

Medio en botellas: 3 años.

Medio en tubos: 2 años.

## ANEXO 23

### PREPARACIÓN DE MUELLER HINTON para la REPLICACIÓN DE BACTERIAS Y HONGOS

© Liofilchem® - Mueller Hinton II Agar - Rev.2 / 30.10.2015

Instructions For Use  
ENGLISH



#### Mueller Hinton II Agar

Medium for antimicrobial susceptibility testing  
by the disc diffusion technique, according to CLSI and EUCAST.

#### DESCRIPTION

Mueller Hinton II Agar is a medium recommended for antimicrobial susceptibility testing of common, rapidly growing aerobic microorganisms by the disc diffusion technique (Kirby-Bauer method), as standardized by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

#### TYPICAL FORMULA

	(g/l)
Beef Extract	2.0
Acid Hydrolysate of Casein	17.5
Starch	1.5
Agar	17.0

Final pH 7.3 ± 0.2 at 25°C

#### METHOD PRINCIPLE

Acid hydrolysate of casein and beef extract supply amino acids, nitrogen, minerals, vitamins, carbon and other nutrients which support the growth of microorganisms. Starch acts as a protective colloid against toxic molecules which can be present in the medium. Hydrolysis of starch during autoclaving supplies a little amount of glucose, which is a source of energy. Agar is the solidifying agent.

The Kirby-Bauer method is based on the diffusion, through the agar, of the antimicrobial substance which soaks the paper disc. Each disc has a single concentration of the antimicrobial agent that inhibits the microorganism growth showing an halo around the disc. The diameter of the inhibiting halo is correlated with the Minimal Inhibitory Concentration (MIC).

Mueller Hinton II Agar is manufactured to contain low levels of thymine and thymidine and controlled levels of calcium and magnesium ions.

#### PREPARATION

Dehydrated medium Suspend 38 g of the powder in 1 liter of distilled or deionized water. Mix well. Heat until completely dissolved. Sterilize in autoclave at 121°C for 15 minutes. Cool to 45-50°C. Aseptically dispense in Petri dishes.

Medium in tubes/bottles Melt the content of the tube/bottle in a water bath at 100°C (loosing the cap partially removed) until completely dissolved. Then screw the cap and check the homogeneity of the dissolved medium, if it is the case turning the tube/bottle upside down. Cool at 45-50°C, mix well avoiding foam formation and aseptically distribute into Petri dishes.

#### TEST PROCEDURE

1. Prepare a standardized suspension of the test organism using either the direct colony suspension or growth method.
2. Dip a sterile cotton swab into the adjusted suspension.
3. Inoculate the surface of the plate by streaking the swab over the entire agar surface.
4. Apply the antimicrobial discs onto the surface of the inoculated agar plate.
5. Incubate aerobically at 35 ± 2°C for 16-18 hours.

#### INTERPRETING RESULTS

After incubation measure the diameter of the zone of complete inhibition including the diameter of the disc. Interpret zone sizes by referring to the current CLSI or EUCAST procedures and standards. Report the organism as susceptible, intermediate or resistant to the agents that have been tested.

#### APPEARANCE

Dehydrated medium: fine, dry, homogeneous, free of extraneous material, beige.  
Prepared medium: slightly opalescent, amber.

#### STORAGE

The powder is very hygroscopic, store the powder at 10-30°C, in a dry environment, in its original container tightly closed. Store tubes, bottles and prepared plates at 10-25°C away from light. Do not use the product beyond its expiry date on the label or if product shows any evidence of contamination or any sign of deterioration.

#### SHELF LIFE

Dehydrated medium: 4 years.  
Medium in tube/bottle: 2 years.  
Ready-to-use plates: 6 months.

#### QUALITY CONTROL

The plates are controlled by performing antimicrobial susceptibility tests as defined by CLSI and EUCAST with the microbial strains indicated in the QC table.

Thymine and thymidine levels of raw materials are determined using the disc diffusion procedure with trimethoprim-sulfamethoxazole (SXT) discs and *Enterococcus faecalis* ATCC® 29212. Calcium and magnesium levels are controlled by testing raw materials and supplementing with sources of calcium and/or magnesium as required to produce correct zone diameters with aminoglycoside antibiotics and *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853.

## ANEXO 24

**PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *TARAXACUM OFFICINALE* (DIENTE DE LEÓN) PARA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA Y ANTIFÚNGICA**

1. Se pesó 2400 mg de extracto y se aforó en 6 mL de etanol absoluto.

2. Disoluciones:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

- Solución madre: 2400 mg/6 mL
- $2400 \text{ mg} \times V_1 = 2200 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_1 = 5.5 \text{ mL} \Rightarrow 400 \text{ mg/mL}$
- $2200 \text{ mg} \times V_2 = 2000 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_2 = 5.45 \text{ mL} \Rightarrow 367 \text{ mg/mL}$
- $2000 \text{ mg} \times V_3 = 1800 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_3 = 5.4 \text{ mL} \Rightarrow 333 \text{ mg/mL}$
- $1800 \text{ mg} \times V_4 = 1600 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_4 = 5.33 \text{ mL} \Rightarrow 300 \text{ mg/mL}$
- $1600 \text{ mg} \times V_5 = 1400 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_5 = 5.25 \text{ mL} \Rightarrow 267 \text{ mg/mL}$
- $1400 \text{ mg} \times V_6 = 1200 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_6 = 5.14 \text{ mL} \Rightarrow 233 \text{ mg/mL}$
- $1200 \text{ mg} \times V_7 = 800 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_7 = 4 \text{ mL} \Rightarrow 200 \text{ mg/mL}$
- $800 \text{ mg} \times V_8 = 400 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_8 = 3 \text{ mL} \Rightarrow 133 \text{ mg/mL}$
- $400 \text{ mg} \times V_9 = 200 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_9 = 3 \text{ mL} \Rightarrow 67 \text{ mg/mL}$
- $200 \text{ mg} \times V_{10} = 100 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_{10} = 3 \text{ mL} \Rightarrow 33 \text{ mg/mL}$
- $100 \text{ mg} \times V_{11} = 50 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_{11} = 3 \text{ mL} \Rightarrow 16,67 \text{ mg/mL}$
- $50 \text{ mg} \times V_{12} = 25 \text{ mg} \times 6 \text{ mL} \Rightarrow V_{12} = 3 \text{ mL} \Rightarrow 8.33 \text{ mg/mL}$

## PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES DE PATRÓN TERBINAFINA Y FLUCONAZOL

- **TERBINAFINA**

$$\begin{array}{l} 30 \mu\text{g terbinafina} \text{ — } 10 \mu\text{l disco} \\ X \text{ — } 1000 \mu\text{l} \\ X = 3000 \mu\text{g terbinafina} \end{array}$$

⇒ Convertir en mg para pesar:

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mg} \text{ — } 1000 \mu\text{g} \\ X \text{ — } 3000 \mu\text{g terbinafina} \\ X = 3 \text{ mg} \end{array}$$

⇒ Se pesó 3 mg de terbinafina en 1 ml de etanol absoluto

- **FLUCONAZOL**

$$\begin{array}{l} 25 \mu\text{g fluconazol} \text{ — } 10 \mu\text{l disco} \\ X \text{ — } 1000 \mu\text{l} \\ X = 2500 \mu\text{g fluconazol} \end{array}$$

⇒ Convertir en mg para pesar:

$$\begin{array}{l} 1 \text{ mg} \text{ — } 1000 \mu\text{g} \\ X \text{ — } 2500 \mu\text{g fluconazol} \\ X = 2.5 \text{ mg} \end{array}$$

⇒ Se pesó 2.5 mg de fluconazol en 1 ml de etanol absoluto

## CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (Diente de león)

Cusco 25 de julio del 2019

### CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (Diente de león)

Solicitantes:

- Bach. OLIVERA DELGADO LIZ INDIRA
- Bach. FELIX GUTIERREZ ELIANA GISELLA

Para la tesis de investigación intitulada "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO SOBRE 04 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)"

Muestra: Extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león)

Indicadores microbiológicos:

1. Criterio imperativo: Presencia de *Salmonella* spp (Agar SS)
2. Criterio indicativo de higiene: Número de coliformes fecales. *Escherichia coli* (Caldo lactosado verde brillante bilis 2%)
3. Criterio de alerta o límites críticos:
  - 3.1 Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilo Viabiles (Agar Plate Count)
  - 3.2 Recuento de hongos y levaduras (Agar Sabouraud)

#### REPORTE DE RESULTADOS DE CONTROL BIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (Diente de león)

CRITERIOS	RECUESTO EN LA DILUCION 10 <sup>-1</sup>	LIMITES BIOLOGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio imperativo	Ausencia de <i>Salmonella</i> SPP	Ausencia de <i>Salmonella</i> SPP	La muestra cumple los LMP
Criterio indicativo de higiene	Numero de coliformes fecales <i>Escherichia coli</i> ausencia	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	La muestra cumple los LMP
Criterio de alerta o limites críticos	Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viabiles <10 <sup>2</sup> UFC	10 <sup>-4</sup> – 10 <sup>-1</sup> UFC	La muestra cumple los LMP
Criterio de alerta o limites críticos	Recuento de hongos y levaduras 10 <sup>2</sup> UFC	10 <sup>-2</sup> – 10 <sup>-3</sup> UFC	La muestra cumple los LMP

El método es el de la IMCSF (Comisión Internacional de Especializaciones Microbiológicas para Alimentos) Laboratorio General de calidad de Agua Ministerio de Salud.

Conclusión: La muestra cumple con los criterios de los límites microbiológicos permisibles.



Hospital Regional - Cusco  
LABORATORIO  
Serv. Bacteriología y Microbiología

## CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)

Cusco 25 de julio del 2019

### CONTROL MICROBIOLÓGICO DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)

Solicitantes:

- Bach. OLIVERA DELGADO LIZ INDIRA
- Bach. FELIX GUTIERREZ ELIANA GISELLA

Para la tesis de investigación intitulada "EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA IN VITRO SOBRE 04 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)"

Muestra: Aceite esencial de *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)

Indicadores microbiológicos:

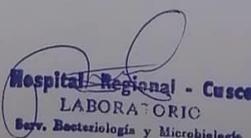
1. Criterio imperativo: Presencia de *Salmonella* spp (Agar SS)
2. Criterio indicativo de higiene: Número de coliformes fecales. *Escherichia coli* (Caldo lactosado verde brillante bilis 2%)
3. Criterio de alerta o límites críticos:
  - 3.1 Recuento de microorganismos Aerobios Mesófilo Viables (Agar Plate Count)
  - 3.2 Recuento de hongos y levaduras (Agar Sabouraud)

#### REPORTE DE RESULTADOS DE CONTROL BIOLÓGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Minthostachys Spicata* (Q'eshua muña)

CRITERIOS	RECuento EN LA DILUCION 10 <sup>-1</sup>	LIMITES BIOLÓGICOS PERMISIBLES (LMP)	OBSERVACIONES
Criterio imperativo	Ausencia de <i>Salmonella</i> SPP	Ausencia de <i>Salmonella</i> SPP	La muestra cumple los LMP
Criterio indicativo de higiene	Número de coliformes fecales <i>Escherichia coli</i> ausencia	Ausencia de <i>Escherichia coli</i>	La muestra cumple los LMP
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de microorganismos aerobios mesófilos viables <10 <sup>-2</sup> UFC	10 <sup>-4</sup> – 10 <sup>-1</sup> UFC	La muestra cumple los LMP
Criterio de alerta o límites críticos	Recuento de hongos y levaduras 10 <sup>-2</sup> UFC	10 <sup>-2</sup> – 10 <sup>-3</sup> UFC	La muestra cumple los LMP

El método es el de la IMCSF (Comisión Internacional de Especializaciones Microbiológicas para Alimentos) Laboratorio General de calidad de Agua Ministerio de Salud.

Conclusión: La muestra cumple con los criterios de los límites microbiológicos permisibles.



## ANEXO 27

### CROMATOGRAFIA DE GASES ACOPLADO AL ESPECTRO DE MASAS DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)



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

#### RESULTADOS

Cusco, 07 de Agosto del 2019

Solicitante : Liz Indira Olivera Delgado y Gisella Eliana Felix Gutierrez  
Tipo de Análisis : Determinación de componentes volátiles en Aceite Esencial  
Tipo de Muestras : Frasco con Aceite Esencial denominado Muña  
Cantidad de Muestra : 1, aproximadamente 1 mL  
Almacenamiento : 4 °C.

#### Condiciones de Análisis para el Aceite Esencial

Cromatógrafo : Agilent 6890N  
Detector Espectrometro de Masas : Agilent 5975B.  
Línea de transferencia : 280°C  
Impacto Electrónico : 70 eV  
Modo escaneo de masas : 40-500 uma

Inyector Automático Agilent: 7683B  
Columna: Agilent HP-5MS 5% Fenil Metil Siloxano.

#### Condiciones del cromatografo.

Temperatura del Horno inicial 60°C

Rampa:

Rate °C/min	temp °C	Final time
Inic	0	60
1	5.00	240
Post Run time:	280	4.00 min

Tiempo de Análisis: 36.00 min

#### Puerto de Inyección

Modo : Split  
Relación de Split : 50:1  
Temp. Inicial : 200 °C  
Tipo de Gas : Helio  
Flujo : 1 mL/min  
Volumen de Inyección : 0.1µL  
Muestra inyecta : puro

Nota: El resultado obtenido en la determinación del Aceite esencial, expresa el contenido relativo en porcentaje de los compuestos volátiles que están presente. La metodología desarrollada es de acuerdo con la literatura descrita (con modificaciones)

- 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

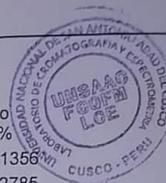


Juim. Jorge Choquenaira Parí  
Analista del Laboratorio de Cromatografía y  
Espectrometría - UNSAAC.  
CGP - 914



RESULTADOS

Pi	Retencion	Compuesto	Libreria Nist 11	CAS	Qual	Contenido Relativo %
1	1.0049	Ethanol		000064-17-5	83	0.1356
2	3.4026	Thujene		028634-89-1	94	0.2785
3	3.5167	.alpha.-Pinene		000080-56-8	96	0.5112
4	4.1595	Sabinene		003387-41-5	91	0.508
5	4.2271	.(-)-β-Pinene		018172-67-3	97	0.6753
6	4.4428	.beta.-Myrcene		000123-35-3	91	0.7622
7	4.5189	3-Octanol		000589-98-0	83	0.6455
8	5.1194	o-Cymene		000527-84-4	97	1.5326
9	5.2039	D-Limonene		005989-27-5	99	1.5781
10	5.3647	trans-.beta.-Ocimene		003779-61-1	97	0.1785
11	5.593	β-cis-Ocimene		003338-55-4	96	1.0465
12	5.8298	.gamma.-Terpinene		000099-85-4	97	0.2804
13	6.7812	β-Linalool		000078-70-6	96	3.6454
14	7.3183	3-Octanol, acetate		004864-61-3	42	0.4481
15	8.1978	l-Menthone		014073-97-3	98	16.4816
16	8.4304	Isomenthone		000491-07-6	98	9.2194
17	8.5573	dl-Menthol		000089-78-1	91	0.3103
18	8.6334	Isopulegon		029606-79-9	83	0.8674
19	9.6609	3-Heptene, 2,2,3,5,6-pentamethyl-		116164-06-8	43	0.4708
20	10.4475	Pulegone		015932-80-6	98	27.4842
21	10.6293	1-Methyl-3,3-pentamethylenediaziridine		026177-34-4	38	1.3773
22	11.5807	Carvacrol		000499-75-2	94	0.7873
23	11.8641	p-Thymol		003228-02-2	94	4.2666
24	12.8113	Eucarvone		000503-93-5	83	0.889
25	13.1115	Thymol acetate		000528-79-0	97	0.3885
26	13.4583	1,4-Benzenediol, 2,5-dimethyl-Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-, acetate		000615-90-7	45	1.8622
27	13.6443			006380-28-5	96	5.8354
28	13.8684	(-)-.beta.-Bourbonene		005208-59-3	89	0.4999
29	14.7522	Caryophyllene		000087-44-5	99	3.5291
30	15.1243	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-		000529-00-0	50	0.6386
31	15.5472	1,4,7,-Cycloundecatriene, 1,5,9,9-tetramethyl-, Z,Z,Z-		1000062-61-9	98	0.5909
32	15.7586	Precocene I		017598-02-6	97	0.2548
33	16.2365	Germacrene D		023986-74-5	95	2.3691
34	16.6424	Bicyclogermacrene		067650-90-2	93	4.7572
35	16.7989	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-		110823-68-2	91	0.195
36	18.5115	Spathulenol		006750-60-3	94	2.5333
37	18.6172	Caryophyllene oxide		001139-30-6	90	0.5165
38	19.0739	Bicyclo[6.1.0]non-1-ene		002570-06-1	49	0.6832
39	19.8604	isospathulenol		006750-60-3	93	0.7539
40	21.5899	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-, [1a-(1a.alpha.,4a.alpha.,7.beta.,7a.beta.,7b.alpha.)]-		006750-60-3	60	0.2122



## REGISTRO FOTOGRAFICO

### PARTE N°01: RECOLECCIÓN DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO

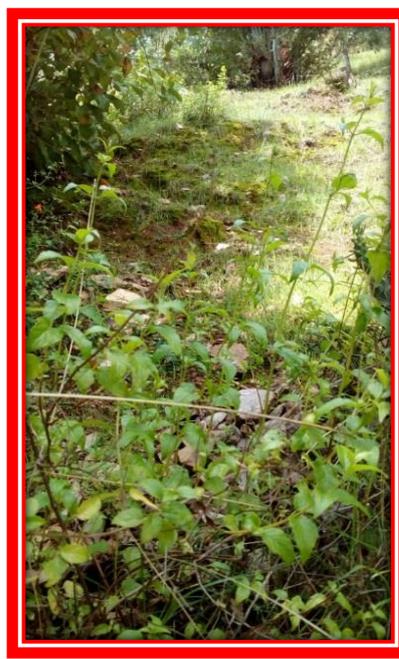
FIGURA N°01: Yucay distrito de Urubamba, departamento de Cusco, a



2885-2890 m.s.n.m.

FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F

FIGURA N°02 y 03: Recolección de la especie vegetal de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) en Yucay distrito de Urubamba, departamento de Cusco, a 2885-2890 m.s.n.m.



FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F

**FIGURA N°04, 05 y 06: Determinación del porcentaje de humedad de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y las hojas de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°07 y 08: Selección y secado de las hojas y tallos de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y las hojas de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

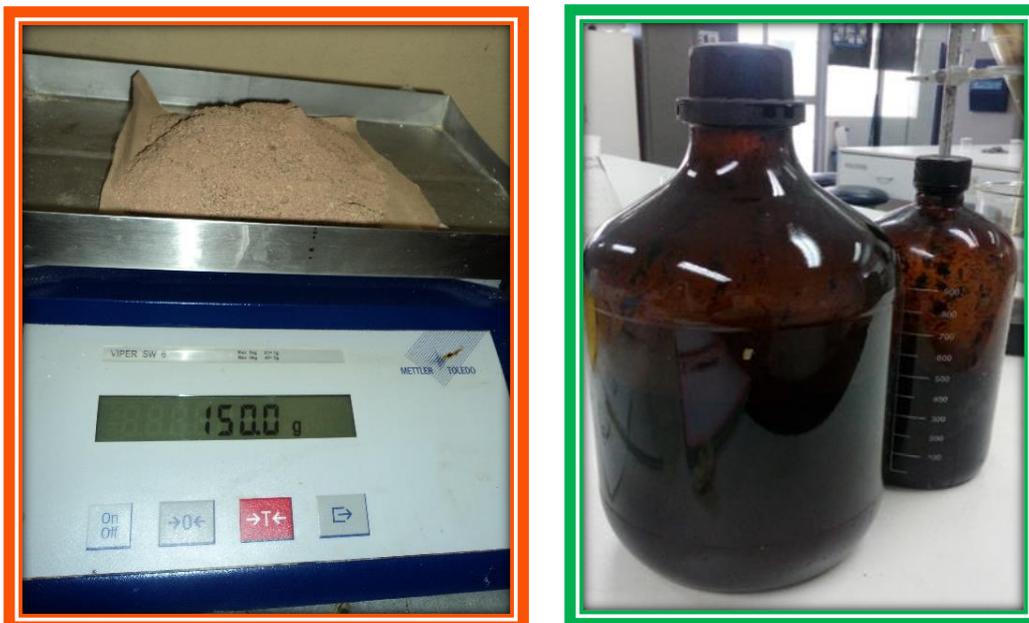
**FIGURA N°09 y 10: Selección y secado de las hojas de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**PARTE N°02: OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (Diente de león)**

**FIGURA N°11 Y 12: Pesado y maceración de la especie vegetal seca y pulverizada de *Taraxacum officinale* (Diente de león)**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°13 Y 14: Filtrado y rotaevaporación de la especie vegetal seca y pulverizada de *Taraxacum officinale* (Diente de león) para la obtención del extracto**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°15 Y 16: Obtención del extracto etanólico al 96% de la especie vegetal de *Taraxacum officinale* (Diente de león)**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**PARTE N°03: OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostchys spicata* (Q'eshua muña)**

**FIGURA N°17: Obtención del aceite esencial por método de arrastre de vapor de la especie vegetal *Minthostchys spicata* (Q'eshua muña)**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

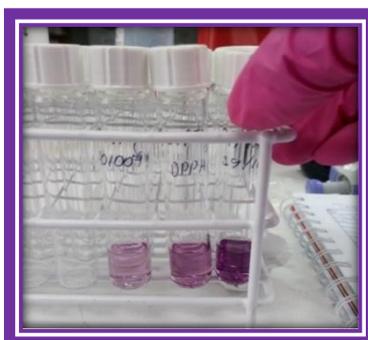
**FIGURA N°18: Deseccación del aceite esencial de la especie vegetal de *Minthostchys spicata* (Q'eshua muña) con sulfato de sodio anhidro y obtención del aceite puro**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

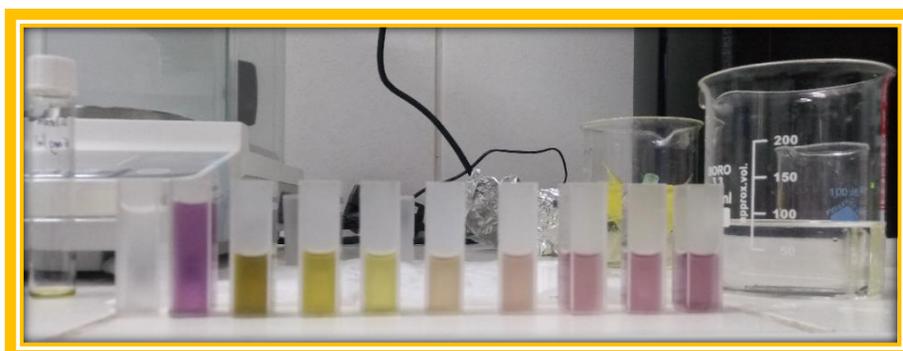
**PARTE N°04: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (Diente de león) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**

**FIGURA N°19: Preparación del reactivo DPPH**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°20: Tubos con las diferentes concentraciones del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) + DPPH después de 30 minutos en oscuridad para luego ser leídos en el**



**espectrofotómetro**

**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°21: Tubos con las diferentes concentraciones del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) + DPPH después de 30 minutos en oscuridad para luego ser leídos en el espectrofotómetro**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°22 Lectura en el espectrofotómetro**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**PARTE N°05: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DEL EXTRACTO ETANÓLICO AL 96% DE *Taraxacum officinale* (Diente de león) Y DEL ACEITE ESENCIAL DE *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña)**

**FIGURA N°23: Vestimenta adecuada - FIGURA N°24: Escala de Mac Farland**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°25: Pesaje de Agar cetrimide para la activación de cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa***



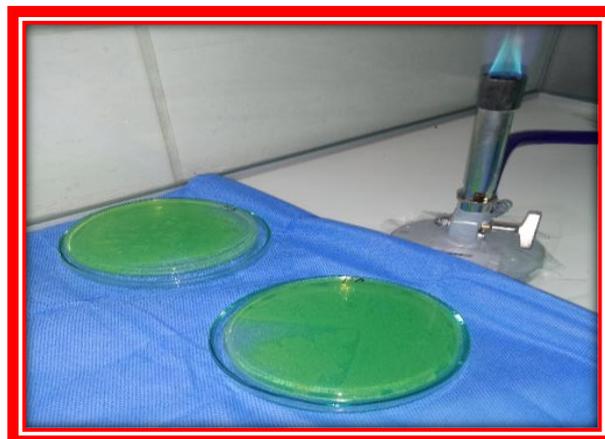
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°26: Preparación de placas con agar cetrimide para la activación de cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°27: Placa activada de cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa***



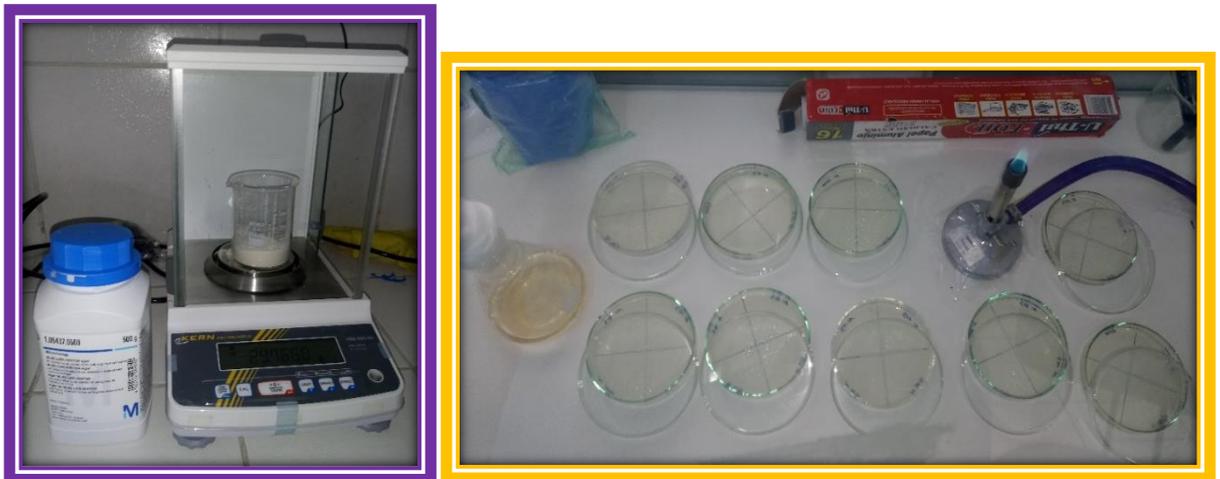
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°28 Y 29: Preparación de caldo BHI para la conservación de la cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa* y para la respectiva comparación con la escala de Mac Farland**



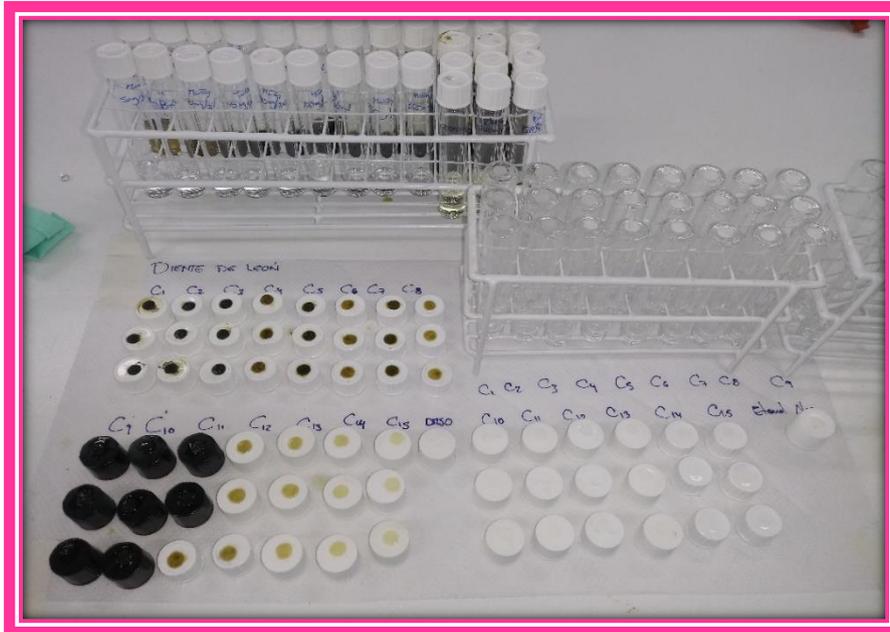
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°30 y 31: Preparación de agar Mueller Hinton para la replicación de la cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa* y su respectivo análisis de la sensibilidad antimicrobina**



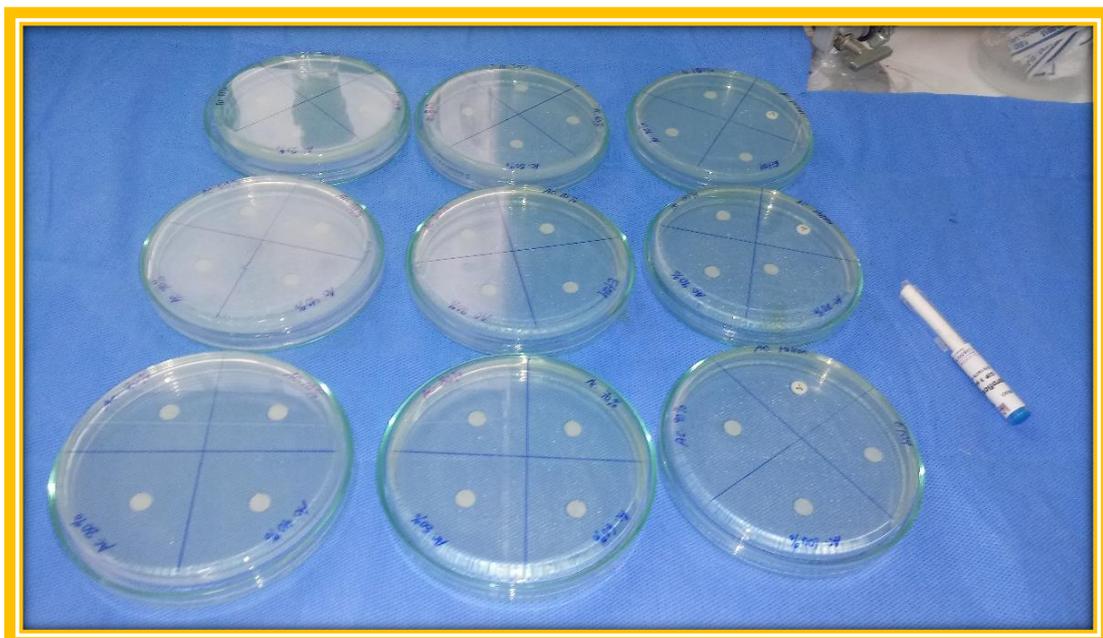
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°32: Preparación de discos a diferentes concentraciones del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) para colocar en las placas listas con agar Mueller Hinton y determinar la sensibilidad microbiana frente a la cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa***



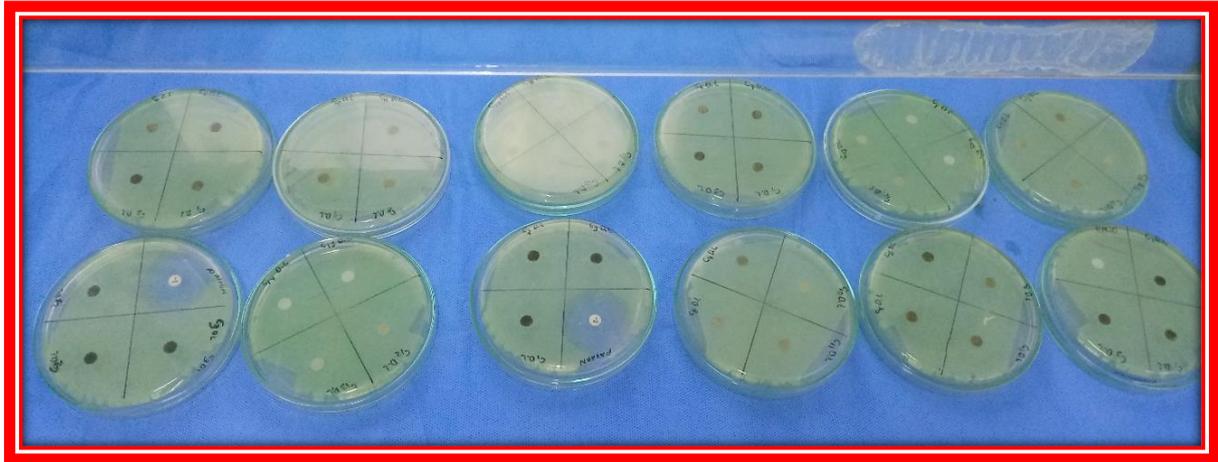
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°33: Placas sembradas con la cepa ATCC *Pseudomona aeruginosa* y sus respectivos discos**



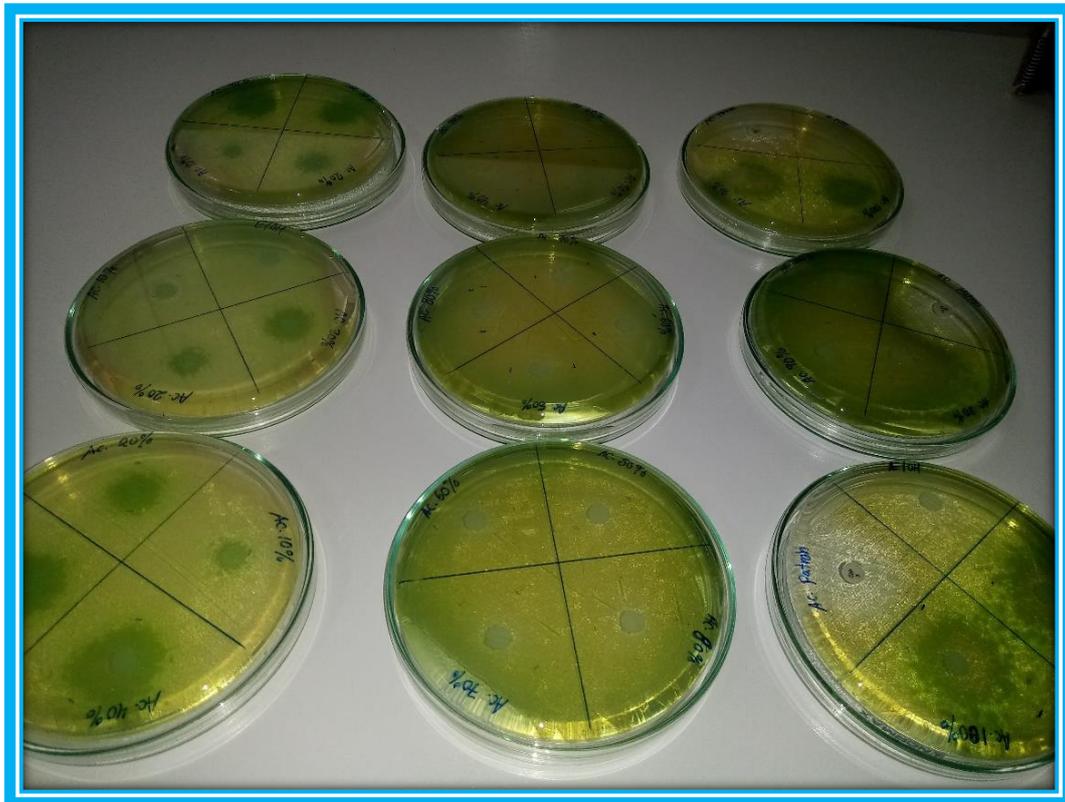
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°34: Resultados de la sensibilidad microbiana del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) frente a la cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°35: Resultados de la sensibilidad microbiana del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) frente a la cepa ATCC de *Pseudomona aeruginosa***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°36: Preparación de placas con agar Mac Conckey para la activación de cepa ATCC de *Escherichia coli***



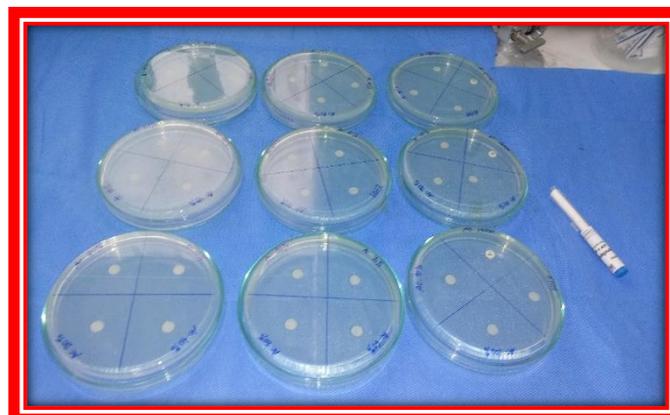
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°37 y 38: Placa activada con cepa ATCC de *Escherichia coli***



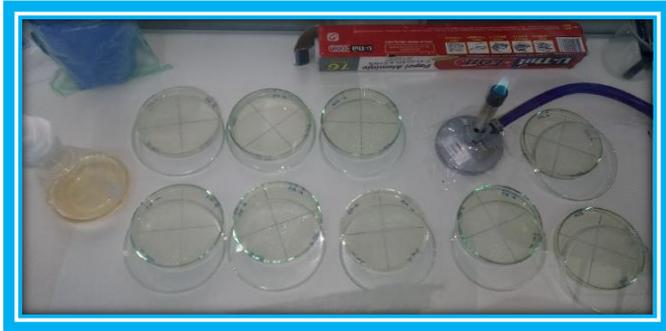
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°39 Y 40: Preparación de placas con agar Mueller Hinton para la replicación de cepa ATCC de *Escherichia coli***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°41: Sembrado de caldo BHI con cepa ATCC de *Escherichia coli* en placas con Mueller hinton**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°42: Preparación de discos a diferentes concentraciones del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) para colocar en las placas ya listas con agar Mueller Hinton para determinar la sensibilidad microbiana de la cepa ATCC de *Escherichia coli***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°43: Placas sembradas con la cepa ATCC *Escherichia coli* y sus respectivos discos**



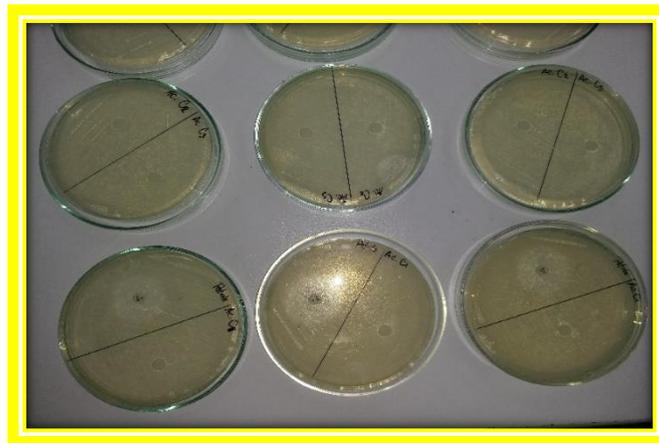
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°44: Resultados de la sensibilidad microbiana del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) frente a la cepa ATCC de *Escherichia coli***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°45: Resultados de la sensibilidad microbiana del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) frente a la cepa ATCC de *Escherichia coli***



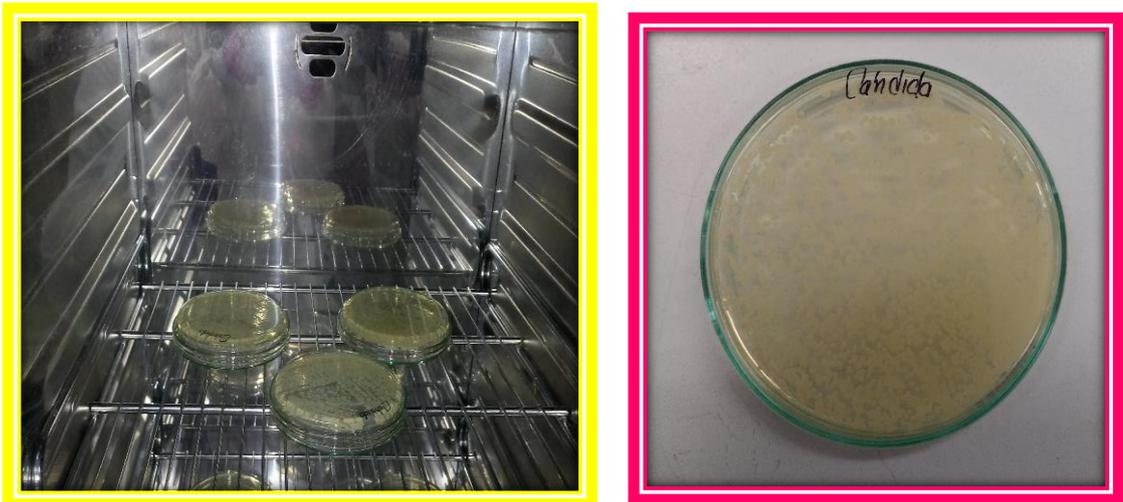
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°46: Agar Sabouraud para la activación de cepa ATCC *Cándida albicans* y cartucho a usar de la misma**



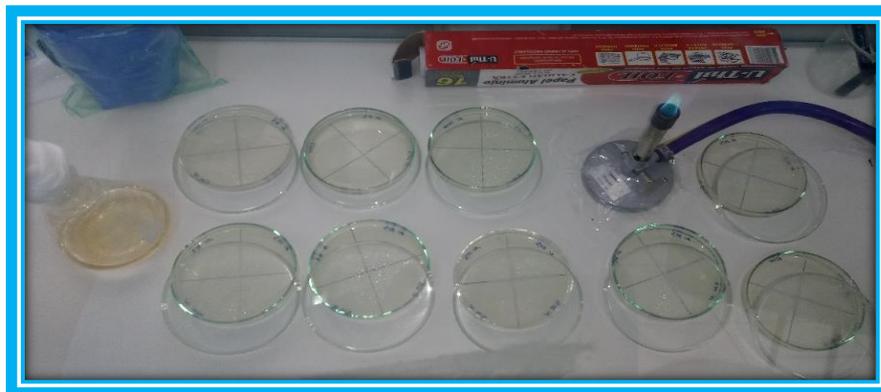
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°47 y 48: Placa activada con cepa ATCC *Cándida albicans***



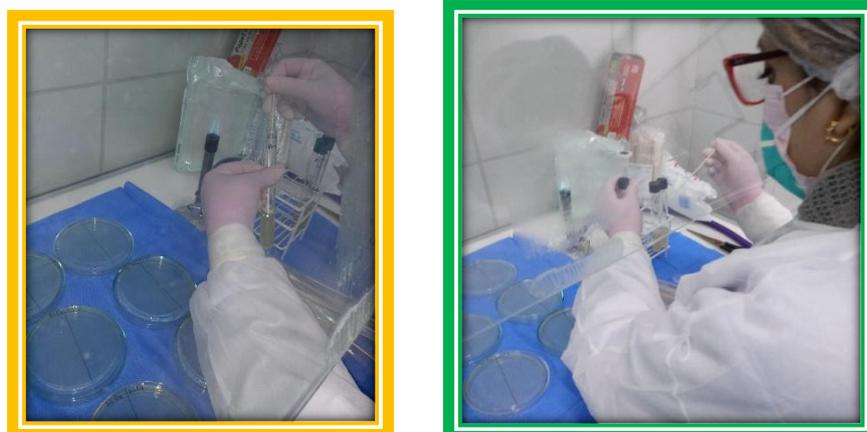
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°49: Preparación de placas con agar Mueller Hinton para la replicación de cepa ATCC de *Cándida albicans***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°50 y 51: Sembrado de caldo BHI con cepa ATCC de *Cándida albicans* en placas con Mueller Hinton**



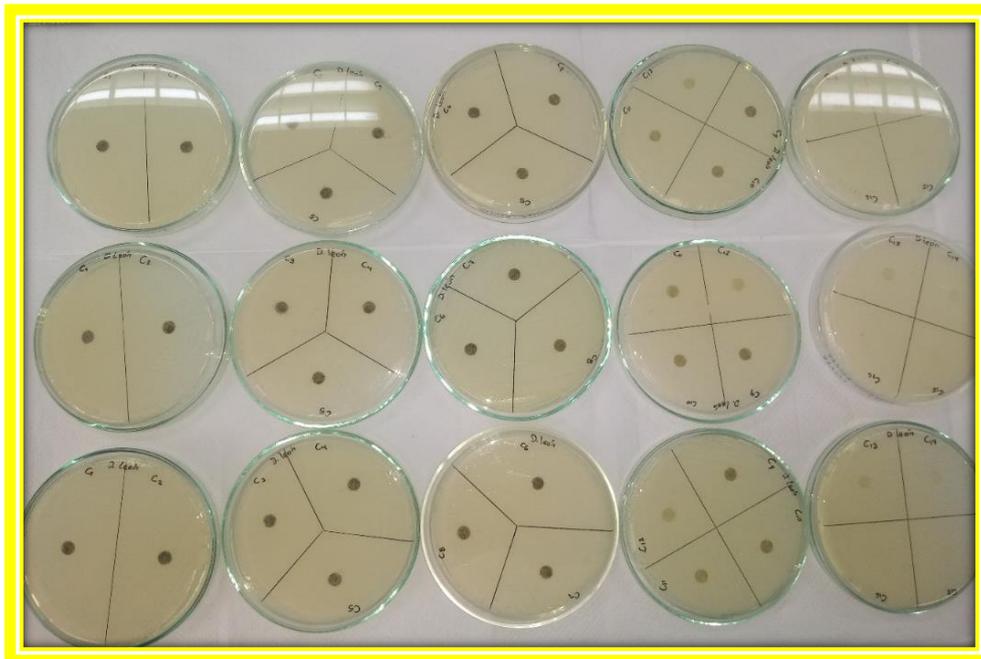
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°52 y 53: Preparación de discos a diferentes concentraciones del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) para colocar en las placas ya listas con agar Mueller Hinton para determinar la sensibilidad microbiana de la cepa ATCC de *Cándida albicans***



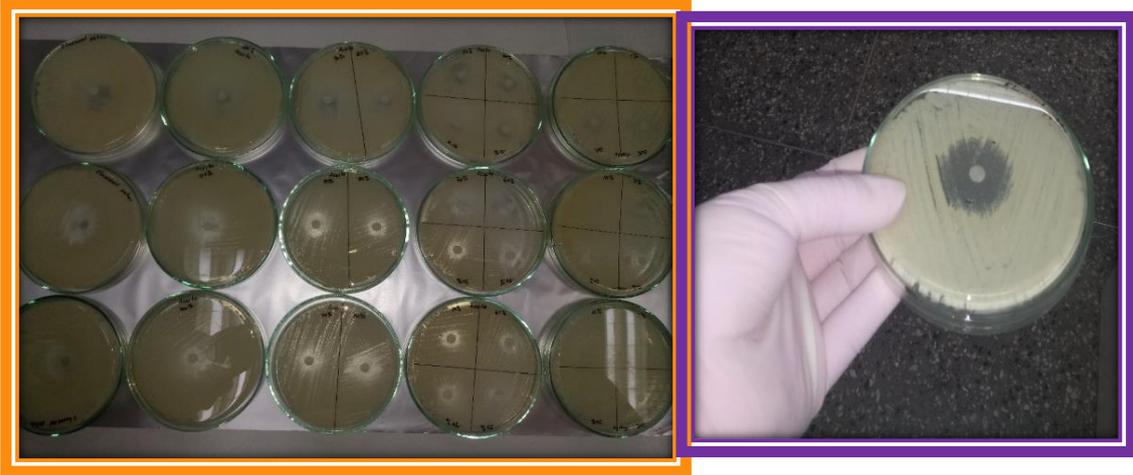
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°54: Resultados de la sensibilidad microbiana del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) frente a la cepa ATCC de *Cándida albicans***

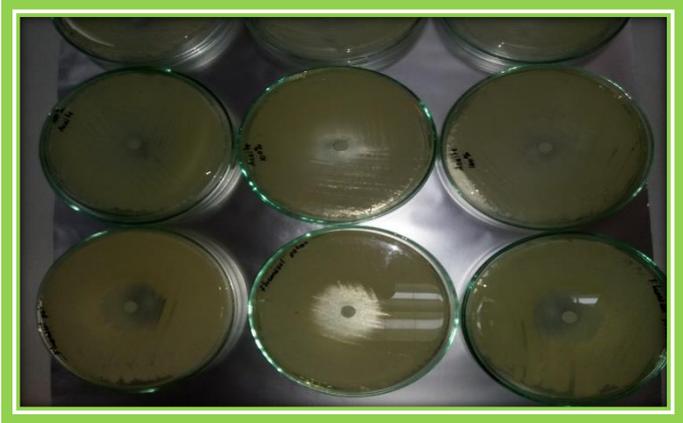


**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°55, 56 y 57: Resultados de la sensibilidad microbiana del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) frente a la cepa ATCC de *Cándida albicans***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°58: Placa activada con cepa ATCC *Trichopytom rubrum***



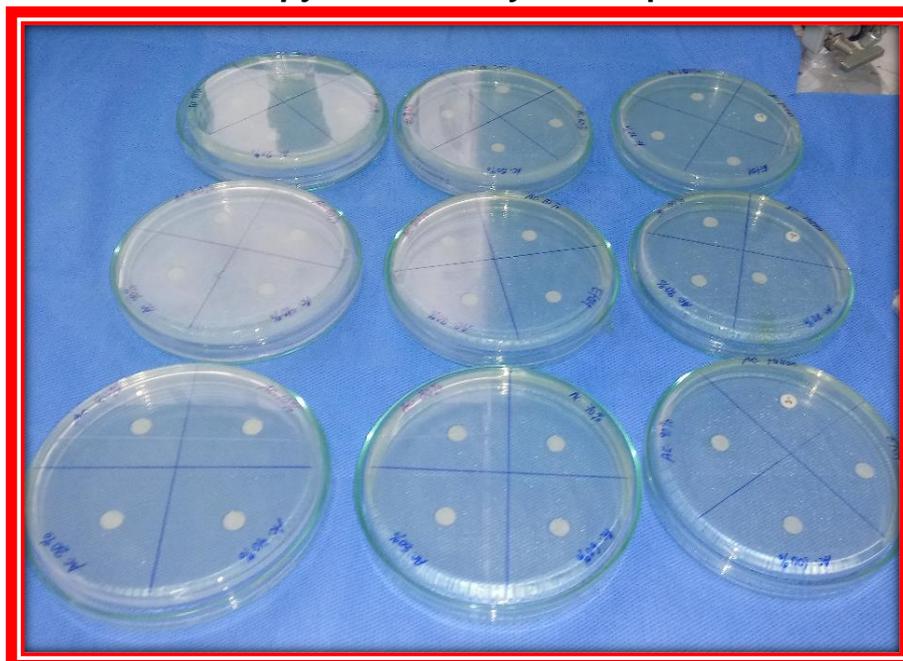
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°59: Preparación de discos a diferentes concentraciones del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) y del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) para colocar en las placas ya listas con agar Mueller Hinton para determinar la sensibilidad microbiana de la cepa ATCC de *Trichopytom rubrum***



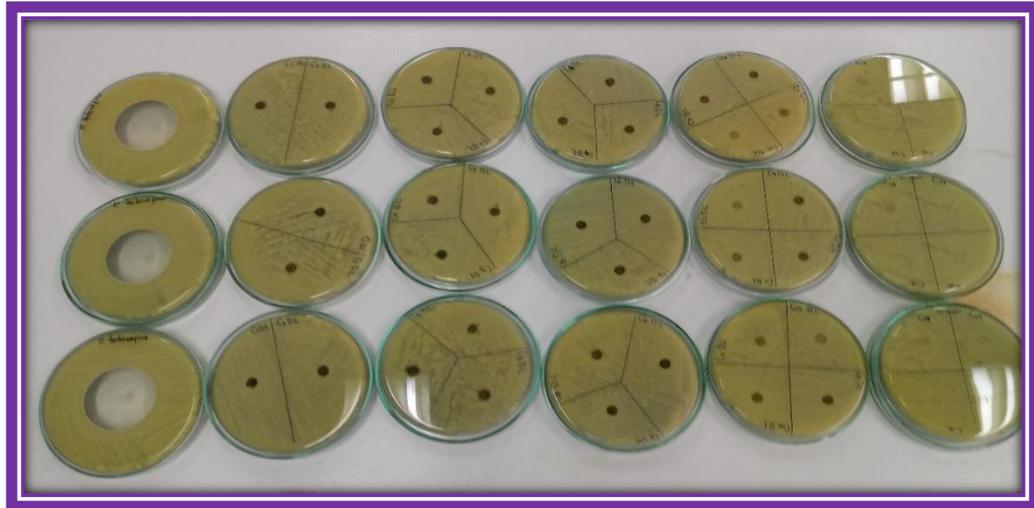
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°60: Placas sembradas con la cepa ATCC microbiana de la cepa ATCC de *Trichopytom rubrum* y sus respectivos discos**



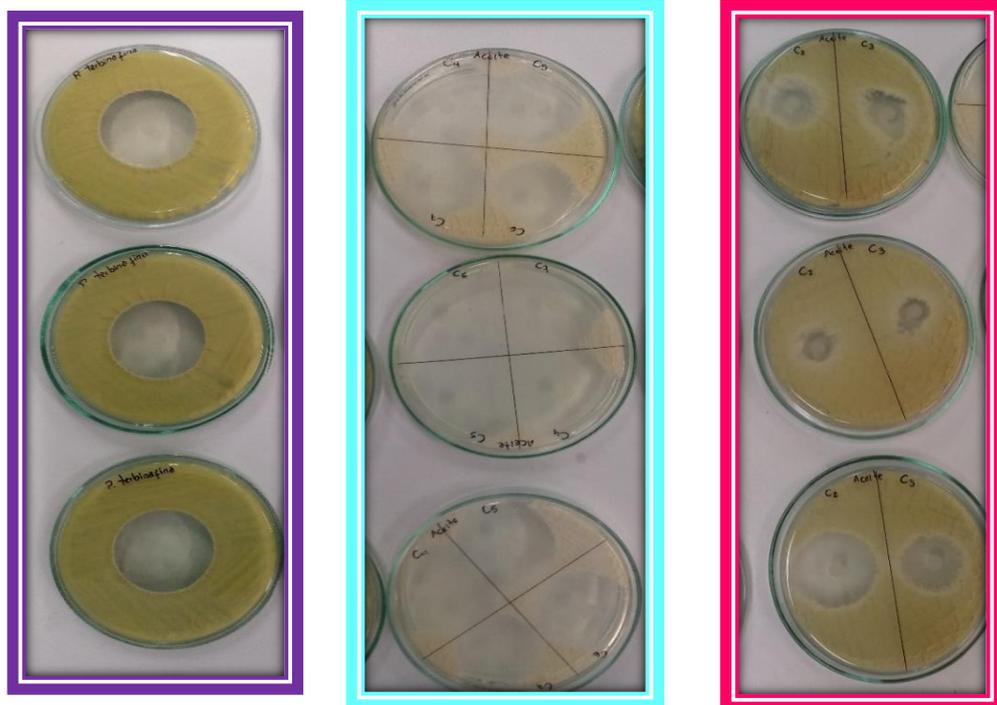
**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

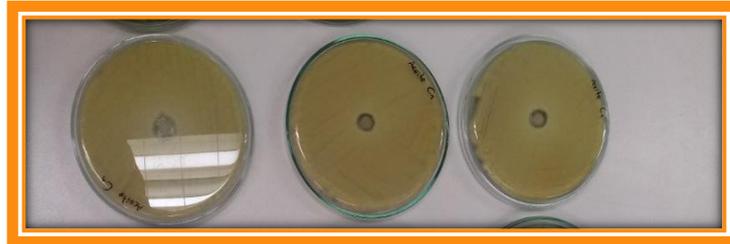
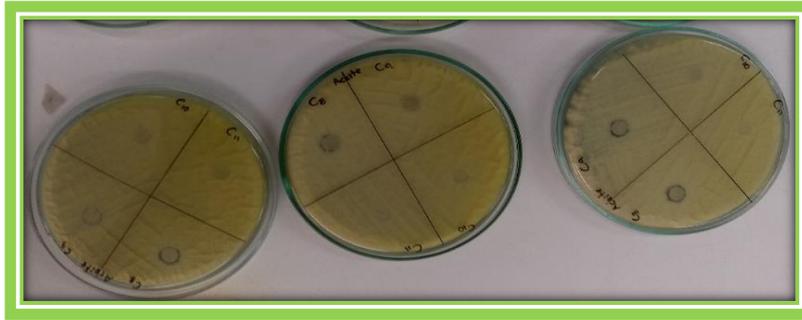
**FIGURA N°61: Resultados de la sensibilidad microbiana del extracto etanólico al 96% de *Taraxacum officinale* (Diente de león) frente a la cepa ATCC de *Trichopytom rubrum***



**FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F**

**FIGURA N°62, 63, 64, 65 Y 66: Resultados de la sensibilidad microbiana del aceite esencial de *Minthostachys spicata* (Q'eshua muña) frente a la cepa ATCC de *Trichopytom rubrum***





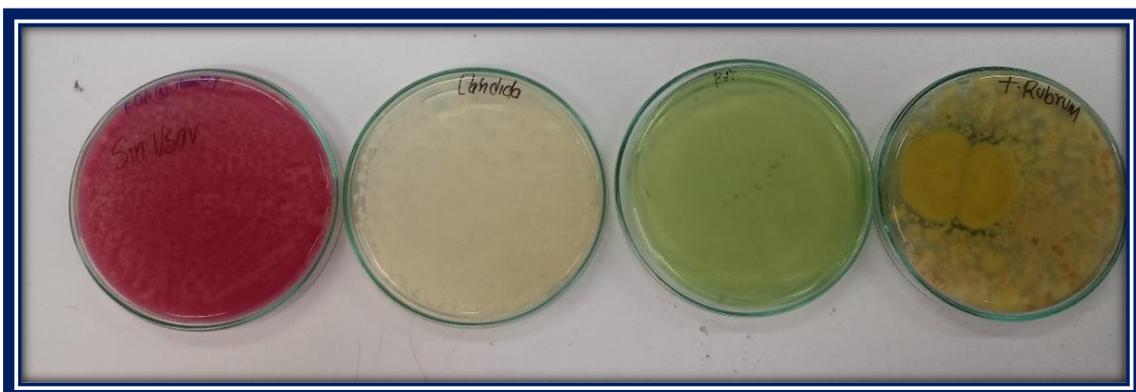
FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F

FIGURA N°67: Medida de los halos de inhibición con Vernier



FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F

FIGURA N°68: Placas activas de cepas ATCC de Escherichia coli, Cándida albicas, Pseudomona aeruginosa y Trichophytom rubrum



respectivamente

FUENTE: L.I.O.D y G.E.G.F