



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**EFFECTO ANTIFÚNGICO *IN VITRO* DEL EXTRACTO  
HIDROALCOHOLICO DE LAS HOJAS DE *Persea  
americana* Mill. (PALTA) FRENTE A LA CEPA DE *Candida  
albicans* ATCC 10231**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

**Bach. HERRERA RÍOS, DEYSI ERIKA**

<https://orcid.org/0000-0001-5647-2611>

**Bach. CURO MIRANDA, KELLY JENIFER**

<https://orcid.org/0000-0003-2077-3513>

**ASESOR:**

**DR. VÍLCHEZ CACEDA, HÉCTOR ALEXANDER**

<https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

**LIMA – PERÚ**

**2022**

## **DEDICATORIA**

A mis padres quienes con su afecto, perseverancia y sacrificio me han otorgado poder realizar hoy un objetivo más, gracias por infundir en mí el modelo de esfuerzo y coraje, de no retroceder ante el tropiezo porque Dios está junto a mí continuamente.

Kelly Jenifer Curo Miranda

A mis padres por su apoyo y cooperación a través de mi vida, por estar constantemente para mí cuando lo requería, por impulsarme cada día a ser la mejor de todos, sus recomendaciones siempre fueron positivas, los amo.

Deysi Erika Herrera Ríos

## **AGRADECIMIENTO**

Agradecemos al Todopoderoso por bendecirnos, por conducirnos a lo largo de nuestra vida, ser el amparo y entereza en aquellos instantes de dificultad y de fragilidad.

Agradecemos a la Universidad María Auxiliadora, por darnos la oportunidad de titularnos, de manera especial, al Dr. Héctor Alexander Víchez Cáceda asesor de nuestra tesis de investigación quien nos ha encaminado con su paciencia y su integridad como docente.

Kelly Jenifer Curo Miranda

Deysi Erika Herrera Ríos

## Índice general

	<b>Páginas</b>
<b>Resumen</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	01
<b>II. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	07
2.1 Enfoque y diseño de la investigación	07
2.2 Población, muestra y muestreo	07
2.3 Variables de investigación	07
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos	08
2.5 Proceso de recolección de datos	08
2.6 Métodos de análisis estadístico	10
2.7 Aspectos éticos	10
<b>III. RESULTADOS</b>	11
<b>IV. DISCUSIÓN</b>	14
4.1 Discusión de resultados	14
4.2 Conclusiones	16
4.3 Recomendaciones	17
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	18
<b>ANEXOS</b>	23

## Índice de Tablas

<b>Tabla 1. Solubilidades del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta)</b>	11
<b>Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta)</b>	12
<b>Tabla 3. Actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta)</b>	13

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Elaboración del macerado hidroalcohólico	31
<b>Figura 2.</b> Proceso de obtención del extracto vegetal	32
<b>Figura 3.</b> Halos de inhibición del ensayo antifúngico	33

## Índice de Anexos

<b>Anexo A.</b>	Operacionalización de variables	24
<b>Anexo B.</b>	Instrumentos de recolección de datos	25
<b>Anexo C.</b>	Matriz de consistencia	28
<b>Anexo D.</b>	Certificado de clasificación taxonómica	29
<b>Anexo E.</b>	Certificado del ensayo antifúngico	30
<b>Anexo F.</b>	Evidencias fotográficas	31
<b>Anexo G</b>	Resolución de aprobación del Proyecto de Tesis	34

## RESUMEN

**Objetivo:** Evaluar el efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) frente a la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

**Métodos:** Se empleó un diseño experimental. La población y muestra vegetal estuvo representado por 6 kg y 1,5 kg respectivamente de hojas de *Persea americana* Mill. (palta) recolectadas en la provincia de Huacho del departamento de Lima; y la muestra biológica estuvo representada por la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 adquirida en el centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM. Se realizaron ensayos de solubilidad, identificación de metabolitos secundarios y el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) a concentraciones del 25 %, 50 %, 75 % y 100 % frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 mediante el método de difusión en agar.

**Resultado:** El extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) presento buena solubilidad únicamente en solventes de naturaleza polar, mediante el tamizaje fitoquímico se pudo evidenciar la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, esteroides y triterpenoides, finalmente no se evidencio efecto antifúngico, reportándose halos de inhibición de 6 mm de igual medida al control negativo de agua destilada.

**Conclusiones:** El extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) no presentó efecto antifúngico ante la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

**Palabras claves:** *Persea americana* Mill., extracto hidroalcohólico, *Candida albicans*, efecto antifúngico.



## ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the in vitro antifungal effect of the hydroalcoholic extract of *Persea americana* Mill. (avocado) leaves against the *Candida albicans* strain ATCC 10231.

**Methods:** An experimental design was used. The population and plant sample was represented by 6 kg and 1,5 kg, respectively, of leaves of *Persea americana* Mill. (avocado) collected in the province of Huacho in the department of Lima; and the microbiological sample was represented by the strain *Candida albicans* ATCC 10231 acquired in the analytical control center of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the UNMSM. Solubility tests, identification of secondary metabolites and the antifungal effect of the hydroalcoholic extract of *Persea americana* Mill. (avocado) leaves at concentrations of 25%, 50%, 75% and 100% against the strain *Candida albicans* ATCC 10231 were carried out using the agar diffusion method.

**Result:** The hydroalcoholic extract of *Persea americana* Mill. (avocado) leaves presented good solubility only in solvents of a polar nature, through phytochemical screening the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids, steroids and triterpenoids could be evidenced, finally no antifungal effect was evidenced, reporting inhibition halos of 6 mm of equal measure to the negative control of distilled water

**Conclusions:** The hydroalcoholic extract of *Persea americana* Mill. (avocado) leaves did not show antifungal effect against the *Candida albicans* strain ATCC 10231.

**Keywords:** *Persea americana* Mill., hydroalcoholic extract, *Candida albicans*, antifungal effect

## INTRODUCCIÓN

Las infecciones causadas por hongos tanto en humanos como en animales han aumentado en las últimas décadas, las micosis oportunistas son responsables de una amplia gama de enfermedades, desde infecciones localizadas hasta enfermedades diseminadas fatales, como aspergilosis, candidiasis. Se sabe que las plagas generadas por clases del grupo *Candida*, específicamente por *Candida albicans* están en crecimiento con un 50 % de incidencia de especies de *Candida*, estos organismos muestran potencial virulento característico, susceptibilidad antifúngica y epidemiológica<sup>1</sup>.

Subsisten cerca de 200 grupos de *Candida*, el 10 % se encuentran descritos relacionados a afecciones. En 80 % de los sucesos, el microorganismo preminente de las plagas está representado por *Candida albicans*<sup>2</sup>.

Asimismo, se considera que el 75 % de las féminas han experimentado un suceso de vaginitis candidiasis en su organismo, la cual es motivo secundario más común del síndrome de flujo vaginal. La especie *Candida albicans* es el responsable del 85-90 % de casos<sup>3,4</sup>.

Cabe destacar que el Perú es considerado como región megadiverso, ya que cuenta con variedad de suelos, gracias a las distintas áreas territoriales y agentes del medioambiente, que ayudan al crecimiento de muchas hierbas con distintos componentes curativos, como la antifúngica.

En gran medida, una variedad de recursos vegetales posee propiedades medicinales en los que la materia prima activa son las hojas, flores, cortezas o sus productos secundarios como extracto, tintura, aceite, y otros como jugo y cera, *Candida albicans* simbolizan el 70 % y 80 % de cepas. Las tasas obtenidas mediante técnicas adecuadas. Se utilizan con fines profilácticos, curativos, paliativos o de diagnóstico. Los fitoterapéuticos tradicionales son sintetizados a partir de plantas medicinales utilizadas tradicionalmente por una población, comúnmente sin riesgo para la salud, confirmadas por estudios toxicológicos agudos, y demostrada su eficacia a través de estudios etnofarmacológicos, o datos obtenidos de la documentación tecnocientífica y publicaciones indexadas<sup>5</sup>.

El uso de estas drogas vegetales está reconocido por la Organización Mundial de la Salud (OMS); sin embargo, se recomienda que se realicen estudios científicos para comprobar su eficacia. Estudios recientes han demostrado la eficacia antimicrobiana y antiinflamatoria de numerosos extractos de plantas <sup>5-7</sup>.

Varias plantas han sido objeto de estudios para demostrar científicamente sus múltiples efectos beneficiosos y promover una mejor indicación como terapia alternativa por ejemplo la *Persea americana* Mill., conocido como árbol de aguacate o palta, es un árbol con hojas perennes perteneciente a la familia Lauraceae, originario de Centroamérica y actualmente distribuido en regiones tropicales y subtropicales. La droga vegetal del aguacate consiste en hojas secas que contienen al menos un 0,4 % del total de flavonoides expresados en apigenina y un 0,14 % de aceite esencial <sup>8</sup>.

Muchos extractos de plantas tienen distintas finalidades terapéuticas, por lo que los estudios con sustancias naturales representan un importante campo de investigación que puede aportar grandes beneficios en la terapia, siendo importante estudiar sus efectos antimicrobianos sobre los microorganismos.

Es preciso señalar que la resistencia a la anfotericina B es rara, existen reportes de casos de resistencia secundaria a *Candida albicans* y de resistencia primaria en *Candida lusitanae* y *Candida guilliermondii* <sup>9</sup>. Los primeros reportes de resistencia a los azoles fueron descritos por Holt y Azmi, quienes reportaron cepas del género *Candida* resistentes al miconazol<sup>10</sup>.

La palta o aguacate es un árbol siempre verde, a pesar de que las hojas presentan una longevidad sorprendentemente corta, que no supera los 12 meses. Se caracteriza por un rápido crecimiento en altura y propagación, alcanzando alturas de hasta 20 m, sus raíces son poco profundas y tienen poca absorción de agua y conductancia hidráulica<sup>11</sup>. La palta pertenece a la familia *Lauraceae* típica de los climas tropicales o subtropicales y al género *Persea*, que se divide en tres subgéneros diferentes que engloban a más de 150 especies: *Persea* (solo 2 especies, *P. americana* y *P. schiedeana*)<sup>12,13</sup>.

Los ácidos grasos monoinsaturados son los predominantes; dentro de este grupo destaca el ácido oleico como uno de los más característicos. Otros ácidos grasos

importantes del fruto del aguacate, aunque menos abundantes, son los ácidos linoleicos (poliinsaturado) y palmítico (saturado). La abundancia de estas sustancias, junto con el hecho de que algunos de los principales beneficios saludables del aguacate se han atribuido a su elevada concentración en ácidos grasos monoinsaturados, hacen de los lípidos una de las familias químicas más estudiadas en la plata. La palta también es una fuente fundamental de vitaminas, en especial de la E y C, colorantes como antocianinas, clorofilas y carotenoides y mixturas fenólicos y alcoholes relacionados <sup>14,15</sup>.

A lo largo de los años, numerosos investigadores han llamado la atención sobre la conexión entre el consumo de palta y una mejor salud, encontrando que algunas de las numerosas sustancias presentes en la fruta del aguacate están estrechamente relacionadas con varios efectos saludables para los seres humanos: mantenimiento del colesterol sérico normal, control de peso, control de la diabetes, prevención del cáncer, etc <sup>16,17</sup>.

La especie *Cándida albicans*, es un hongo que crece de dos formas desarrollándose en función de la temperatura para su crecimiento, como levadura, normalmente a 37 °C en el huésped y como hongo de aspecto filamentoso a 25 °C en la naturaleza<sup>18</sup>.

Presentan una estructura de células ovaladas o redondas, agrupadas en diminutos grupos, en forma de levadura actúa como saprofita cohabitando con el hospedero mientras que, en la estructura de hongo filamentoso se alarga comportándose como parásito patógeno produciendo síntomas en el huésped aprovechándose de un sistema inmunitario deprimido y así convirtiéndose en microorganismos oportunistas originando enfermedades como la candidiasis <sup>19</sup>.

Aproximadamente hay 163 especies del género *Candida*, de estos 10 son los causantes de la mayoría de las afecciones siendo la especie *Candida albicans* la más frecuente e importante, a esto se suma el surgimiento de resistencias a fármacos y un inminente desplazamiento de cepas sensibles por otras más resistentes debido al uso masivo de antifúngico como preventivo y terapéutico <sup>20-22</sup>.

Entre los antecedentes nacionales de la investigación tenemos:

**Canaza M., y Misaray M. (2018)**, evaluaron la actividad antifúngica in vitro, del extracto etanólico de *Persea americana*. El extracto etanólico al 100% es la concentración que presenta mayor efecto antifúngico. Además, el extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* en sus diferentes concentraciones presenta efecto antifúngico “in vitro” sobre *Trichopyton rubrumalbicans*<sup>23</sup>.

**Floyd K. (2019)**, evaluó la actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 del extracto etanólico de palta asimilado con oxacilina 10 µg. In vitro. El extracto a concentraciones de 25 %, 50 %, 75 %, 100 % presento halos de 9,10 mm, 15,00 mm, 19,70 y 22,00 mm, pero esta densidad no sobrepasa a la clase oxacilina que logró un halo de inhibición de 31,10 mm <sup>24</sup>.

**Maravi I, et al. (2019)**, investigo sobre la actividad antibacteriana de la semilla de la palta en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Observándose un aumento gradual de los halos de inhibición hasta 13,83 mm El extracto presento actividad “in vitro” en *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 a concentraciones altas y por último, el extracto etanólico de palta tuvo una actividad antibacteriana en un 50% comparado con ciprofloxacino <sup>25</sup>.

**Leon B, Mattos L. (2021)**, lse efectuaron ensayos In vitro para determinar el efecto de los microorganismos *Trichoderma harzianum* (T), *Bacillus subtilis* (B) y fertilizante proteinato de cobre (P) para el control de *Lasiodiplodia theobromae* y *Fusarium verticillioides* asociados a semillas de palto. La interacción entre T. *harzianum* + Proteinato de cobre fue el tratamiento con mayor efecto en la inhibición micelial de los patógenos con 91.23 % seguido del fertilizante proteinato de cobre con 87.67 % y T. *harzianum* con 81.84 % de inhibición, en comparación a *Bacillus subtilis*. que tuvo menor efecto en el control de estos patógenos fungosos<sup>26</sup>.

**Sánchez E. (2016)**, evaluó el efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la semilla de palta en *Enterococcus faecalis* ATCC29212. Los promedios de halo de inhibición fueron: 11,2; 13,09; 15,35; 19,35 mm, de diámetro, a sus concentraciones: 10; 25; 50 y 75 % respectivas. El extracto etanólico de palta en sus distintas concentraciones, tiene efecto antibacteriano “in vitro” en *Enterococcus faecalis* <sup>27</sup>.

Entre los antecedentes internacionales tenemos:

**Makopa M. et al. (2020)**, El método de microdilución en caldo se utilizó para investigar la susceptibilidad antibacteriana y antifúngica de las cepas microbianas hacia los extractos de hojas, se concluyó que los extractos de hojas de *P. americana* contienen fitoquímicos con efectos antibacterianos, antifúngicos y inhibidores de la  $\alpha$ -glucosidasa. Se requieren más estudios para la identificación de los compuestos activos en los extractos de hojas responsables de estos efectos observados.<sup>28</sup>.

**Audiline M. (2020)**, El objetivo de este estudio fue identificar la composición química de la *Persea americana* Molino. extracto etanólico de hoja (EEFPa) mediante la técnica UPLC-QTOF-MS/MS, para verificar su actividad antifúngica mediante una prueba de sensibilidad, para inducir la formación de biopelículas en discos de resina acrílica y cuantificar su formación mediante reducción de sal de tetrazolio (MTT), así como tratarlas con el extracto y fluconazol. Se identificaron diez de los doce compuestos presentes en el extracto. En la prueba de sensibilidad, la concentración inhibitoria mínima más baja observada fue de 512  $\mu\text{g/mL}$ , mientras que las concentraciones de fluconazol oscilaron entre 64 y 1  $\mu\text{g/mL}$ .<sup>29</sup>.

**Jesús D, et al (2015)**, evaluó la actividad antifúngica del extracto de *Persea americana* en el biofilm de *Candida albicans* y su citotoxicidad en cultivo de macrófagos (RAW 264.7). Para determinar la concentración mínima inhibitoria (MIC) se realizó una microdilución en caldo. Posteriormente, se analizaron las concentraciones de 12,5, 25, 50, 100 y 200 mg / ml (n = 10) con 5 min de exposición en biopelículas maduras en pocillos de microplacas durante 48 h. La MIC del extracto fue 6. 25 mg / mL y con 12,5 mg / mL se eliminó el 100% de los cultivos planctónicos<sup>30</sup>.

La micosis causada por *Candida albicans*, a experimentado un aumento en las últimas décadas. Las zonas más afectadas son los pliegues cutáneos donde la humedad favorece un hábitat adecuado para su desarrollo. Se puede manifestar como: erosión interdigital, candidiasis del pañal, onicomicosis<sup>31</sup>.

El presente trabajo de investigación se justifica, teniendo en cuenta la resistencia de la *Candida albicans* a los antifúngicos sintéticos, se hace necesario estudiar métodos alternativos como los extractos de plantas, y con el popular uso terapéutico de la palta y algunos estudios que sugieren sus efectos antimicrobianos

y antiinflamatorios, es de interés estudiar este extracto para ampliar su indicación terapéutica.

El objetivo general de la investigación fue:

Evaluar el efecto antifúngico *in vitro* del extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.

La hipótesis general de la investigación fue:

El extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) presenta efecto antifúngico *in vitro* frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 ENFOQUE Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

**Enfoque:** Cuantitativo.

**Experimental:** Se manipuló la variable independiente.

**Analítico:** Es un estudio que buscó establecer relación de causa-efecto entre las variables de estudio.

**Explicativo:** Se interpretó porque ocurre un hecho. Se evaluó el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) ante la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231

**Prospectivo:** La recolección de los datos se realizó conforme ocurren los hechos.

**Transversal:** La recolección de los datos se realizó por única vez en un momento determinado.

### 2.2 POBLACIÓN, MUESTRA Y MUESTREO

La población vegetal estuvo constituida por 6 kilogramos de hojas de *Persea americana* Mill. (palta) procedentes de la provincia de Huacho del departamento de Lima a una altura de 200 metros de altitud.

La muestra vegetal estuvo constituida por 1500 gramos de hojas de *Persea americana* Mill. (palta).

El muestreo fue aleatorizado, se consideró las técnicas de recolección de especies vegetales.

La muestra biológica estuvo representada por la cepa *Candida albicans* ATCC 10231 adquirida en el centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM.

Criterios de inclusión:



- Hojas en buenas condiciones.
- Material vegetal procedente de la provincia de Huacho departamento de Lima.
- Material vegetal debidamente identificado y certificado.

Criterios de exclusión:

- Hojas maltratadas, rotas, sin conservación.
- Material vegetal sin ficha de clasificación.
- Cepas biológicas sin certificado de análisis.

### 2.3 VARIABLES DE INVESTIGACIÓN

**Variable independiente:** El extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta)

Definición conceptual: Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta).

Definición operacional: Extracto elaborado con una mezcla de alcohol al 70° y las hojas de *Persea americana* Mill. (palta).

**Variable dependiente:** actividad antifúngico frente a la cepa *Candida albicans* ATCC 10231.

Definición conceptual: El diámetro del halo de inhibición es la reducción o disminución del crecimiento antifúngico.

Definición operacional: La actividad antifúngica se evaluó mediante el método de difusión en agar.

### 2.4 Técnicas e Instrumento de recolección de datos

Los instrumentos que se emplearon fueron las fichas de observación para el ensayo de la solubilidad, para la marcha fitoquímica y la actividad antifúngico.

### 2.5 Procedimientos para la recolección de datos

Se realizó con los siguientes procesos:

### **2.5.1 Recolección y preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) <sup>32</sup>**

Se recolectó 6 kg de hojas de *Persea americana* Mill. (palta) procedentes de la provincia de Huacho del departamento de Lima , luego de la selección, limpieza y desinfección se procedió a secar en estufa a 40 °C posteriormente se trituro y se procedió a macerar en mezcla de agua y etanol 70 % durante 10 días con agitación diaria, transcurrido este tiempo se filtró y el líquido filtrado se colocó a la estufa a 40 °C hasta obtener un extracto seco. Finalmente se realizó el pesaje y se colocó en un frasco de vidrio color oscuro y se almacenó en refrigeración hasta su posterior uso.

### **2.5.2 Ensayo de solubilidad<sup>32</sup>**

Del extracto seco obtenido, con la ayuda de una varilla de vidrio se utilizó una pequeña muestra y se colocó en el fondo de cada tubo de prueba, luego se adicionó 1 mL de los siguientes solventes: agua, etanol, metanol, éter de petróleo, acetona, cloroformo, hexano.

### **2.5.3 Ensayo de la marcha fitoquímica<sup>33</sup>**

Del extracto obtenido se realizó distintas pruebas de identificación de diversos compuestos químicos por medio de variaciones de coloración o aparición de precipitados, donde se determinó la existencia de los principales metabolitos secundarios.

#### **Ensayo de Shinoda (Flavonoides)**

Se colocó 20 gotas del extracto en un tubo, se agregaron de 2 a 3 virutas de Magnesio y también gotas de ácido clorhídrico concentrado.

#### **Ensayo de Mayer, Dragendorff y/o Wagner. (Alcaloides)**

La disolución del extracto se filtró hasta quedar cristalino. Se tomó una proporción del colado para la prueba con los reactivos de Mayer, Dragendorff, y Wagner.

#### **Ensayo de Borntrager (Quinonas)**

Si la proporción no se encontró en cloroformo, debe concentrarse el disolvente y el residuo disolverse en 1mL de cloroformo. Se adicionó 1mL de hidróxido de sodio o potasio al 5 %. La prueba se considera positiva si la etapa acuosa básica se coloreó de rosa, en esta situación se declara (++) o rojo, o también se declara (+++)<sup>33</sup>.

#### **Ensayo de Baljet (Cumarinas)**

Si la proporción del modelo a utilizar no se encuentra en alcohol, se debería concentrar el disolvente y se debe disolver en 1mL de etanol. En seguida, se añadirá 1mL del reactivo. El ensayo se considera verdadero, cuando hay una pigmentación de tono rojo o precipitado rojo (++ y +++)<sup>33</sup>.

#### **2.5.4 Actividad antifúngica por el Método difusión en agar<sup>34</sup>**

La actividad antifúngica se realizó en el centro de control analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNMSM por el método de difusión en agar, con este método nos permitió evaluar la actividad antifúngica del extracto extracto hidroalcohólico de las hojas *Persea americana* Mill. (palta) frente a la cepa de *Candida albicans*.

El ensayo se fundamenta en la inhibición del desarrollo fúngico, mediante la expansión de los elementos activos en un medio sólido y se comprueba en función al desarrollo de halos cerca de las colonias.

Para la elaboración de la suspensión del inóculo, se utilizó el microorganismo *Candida albicans* en el medio de agar glucosa Sabouraud por 48 h. Después de suspender al microorganismo en solución salina 0,85 % y se ajustó la turbiedad al semejante al tubo 0,5 de la escala de McFarland.

Se utilizó el agar glucosa Sabouraud al inocular 1 mL de suspensión de inoculación ( $1 \times 10^6$  ufc / mL) por 100 mL de promedio, homogeneizar y distribuir en láminas Petri de vidrio de diámetro medio de 90 mm, fueron rotulados con el apelativo del microorganismo. Por último, se realizaron agujeros con un punzón de acero con un diámetro exterior de 11 mm, haciendo 2 o 3 agujeros equidistantes en cada placa.

La inoculación e incubación de la muestra poner 100  $\mu$ L del extracto de la concentración anterior en el pocillo, se dejó reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego incubo a 37 ° C durante 24 horas. Se observo que las áreas luminosas de inhibición del aumento (halos) y se midieron los diámetros en mm. Se utilizó las siguientes estimaciones para garantizar una actividad antifúngico sustancial a un halo de inhibición superior a 18 mm según Rojas<sup>35</sup>, mientras que Duraffourd y Lapraz plantean una interpretación de (-) Nula: Diámetro (< 8 mm); (+) Perceptible inferior: Diámetro (8 - 14 mm); Promedio (muy sensitivo): Diámetro (14 - 20 mm) y Fuertemente sensitivo: Diámetro (> 20 mm) <sup>35</sup>.

Se utilizó como:

Control positivo: fluconazol 0,2 mg/mL

Control negativo: agua destilada

## **2.6 Métodos de análisis estadísticos**

Luego de obtener los resultados, se realizó el análisis recurriendo a la estadística descriptiva utilizando programa Microsoft Excel - 2019. Los datos estuvieron representados por los halos de inhibición medidos a las 24 horas de incubación, donde se registró la reducción del halo de crecimiento.

## **2.7 Aspectos éticos**

La presente investigación se desarrollo considerando las normas de Helsinki y las normas de buenas prácticas de laboratorio, por ser un estudio de carácter microbiológico y reducir al mínimo el posible daño al medio ambiente <sup>36</sup>.

### III. RESULTADOS

#### 3.1 Ensayos preliminares para el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)

Tabla 1. Solubilidades del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)

SOLVENTES	RESULTADOS
N-hexano	-
Cloroformo	-
Etanol 96%	+++
Metanol	++
Éter de petróleo	-
Agua destilada	++
Acetona	-

Donde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

En la tabla 1, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta), presenta una solubilidad media y alta en presencia de solventes de naturales polar como el agua destilada, etanol 96%, metanol, mientras que fue insoluble frente solventes de apolares como la acetona, éter de petróleo, cloroformo y n-hexano.

### 3.2 De la marcha fitoquímica

**Tabla 2. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)**

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>ENSAYO</b>	<b>RESULTADO</b>
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl <sub>3</sub> 5%	++
Taninos	Rvo. Gelatina 1%	+
Flavonoides	Rvo. Shinoda	+
Esteroides y triterpenoides	Rvo. Liebermann Burchard	+
Cardenólidos	Rvo. Baljet	-
Alcaloides	Rvo. Dragendorff	-
	Rvo. Mayer	-
Antraquinonas	Rvo. Borntranger	-
Saponinas	Espuma persistente	+

Donde: (+++) abundante (++) Moderado (+) Leve (-) Ausencia

En la tabla 2, se puede apreciar la presencia de metabolitos secundarios como: compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, saponinas, esteroides y triterpenoides.

### 3.3 Ensayo del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)

**Tabla 3. Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)**

<b>CEPA</b>	<b><i>Candida albicans</i></b>			
<b>Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta)</b>	<b>Halos de inhibición (mm)</b>			
<b>(%)</b>	<b>n=3</b>			<b>promedio</b>
<b>Repeticiones</b>	1	2	3	Total
<b>100</b>	6	6	6	6
<b>75</b>	6	6	6	6
<b>50</b>	6	6	6	6
<b>25</b>	6	6	6	6
<b>Control positivo</b>	16.04	18.42	18.11	17.52
<b>Control negativo</b>	6	6	6	6

- Concentración del inóculo  $1 \times 10^8$  UFC/mL.
- Control positivo: Fluconazol 0.2 mg/mL
- Control negativo: agua destilada
- Volumen inoculado 40 uL
- Tamaño de los pocillos es de 6mm, cuando se reporta dicha medida indica que no hay formación de halos.

En la tabla 3, se describen los resultados de la actividad antimicótica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta). Se observa que los halos de inhibición para todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta) y el control negativo fueron de 6 mm. mientras que el control positivo reportó un halo de inhibición del 17.52 mm.

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1 Discusión de resultados

Conforme con los análisis realizados como se indica en la tabla 1, se puede apreciar que el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta), presenta una solubilidad media y alta en presencia de solventes de naturales polar como el agua destilada, etanol 96%, metanol, mientras que fue insoluble frente solventes de apolares como la acetona, eter de petróleo, cloroformo y n-hexano; esto debido a que los diversos componentes que conforman en el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta) como compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, esteroides y triterpenoides, tiene afinidad a los compuestos polares. El contenido descrito de metabolitos secundarios es parecido a los reportados por Ajayi<sup>37</sup> en el año 2017, en el extracto metanólico de las hojas de *Persea americana* Mill., donde evidencia la presencia de saponinas, taninos, flavonoides, terpenoides, etc.

En la tabla 3, se describen los resultados de la actividad antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta). Se observa que los halos de inhibían para todas las concentraciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta) y el control negativo fueron de 6 mm. mientras que el control positivo reporto un halo de inhibición del 17.52 mm, otros investigadores han reportado actividad antifúngica y antibacterianas para extractos hidroalcohólicos de otras especies vegetales, otra investigación determinó el mecanismo de acción de los 3 extractos más potentes de *Persea americana* Mill. Los tres extractos más potentes contra *Staphylococcus epidermidis* fueron los extractos de etanol:agua, diclorometano:metanol y acetona. Los agentes antibacterianos generalmente actúan sobre las membranas de los microorganismos para afectar la interrupción y la permeabilización<sup>37</sup>. Otros estudios previos realizados en extractos de agua/etanol de *Cissus welwitschii* contra *Bacillus cereus* por Moyo y Mukanganyama<sup>32</sup>. Otros estudios han informado mecanismos de fuga de proteínas y eliminación de especies reactivas de oxidación inducidas por fitoquímicos<sup>38</sup>, lo que puede usarse para explicar el resultado obtenido en este estudio, donde los efectos de fuga de



proteínas por los extractos de etanol: agua y diclorometano: metanol contra *Staphylococcus epidermidis* pero no hubo fuga de ácido nucleico.

Al evidenciar que en nuestro ensayo los resultados fueron negativos podrían explicarse que la ausencia de actividad es debido al antagonismo de utilizar un extracto no refinado o fraccionado<sup>39</sup>, pero el extracto no pudo actuar sobre la membrana nuclear, que rodea el material de ácido nucleico; por lo tanto, no se evidencio el ensayo antimicótico<sup>40</sup>.

Otras investigaciones reportaron buena actividad antifúngica para extracto hidroalcohólica de *Persea americana*, con una concentración mínima inhibitoria (MIC) de 32 µg/ml para *Candida glabrata* resistente a fluconazol.

Otros reportes de investigación indican que los valores de MIC inferiores o iguales a 100 µg/ml para la actividad antimicrobiana esta relacionada con la presencia de flavonoides. Los resultados obtenidos para *P. americana* se encuentran dentro de este rango. Se sabe que los flavonoides tienen actividad antimicrobiana, y la presencia de rutina o rutosido y quercetina en los extractos probablemente contribuyó a esta actividad. En un estudio de Araruna *et al*<sup>41</sup>, la actividad antifúngica del metabolito rutosido presentó una CIM de 32 µg/ml contra tres especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis*). El mecanismo de la actividad antifúngica de los flavonoides probablemente se deba a la capacidad de formar complejos con proteínas extracelulares y solubles de la pared celular fúngica

A pesar de que nuestros resultados muestran valores no favorables, es importante destacar seguir realizando ensayos y pruebas más específicas debido a que las infecciones causadas por especies de *Candida* han aumentado significativamente en los últimos 30 años, especialmente en pacientes inmunocomprometidos. La *Candida albicans* es el patógeno más frecuentemente aislado en pacientes con esta condición con una alta morbilidad y mortalidad. Aunque *Candida albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia, y destaca por su menor sensibilidad a los antifúngicos, principalmente a los azoles.

## 4.2 Conclusiones

- Mediante el tamizaje o marcha fitoquímica los componentes destacados en el extracto hidroalcohólico son los compuestos fenólicos, taninos caté quicos, flavonoides, esteroides y triterpenoides.
- El extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta) no presenta actividad antifúngico frente a la cepa de *Candida albicans*.
- El control positivo fluconazol presento un halo de inhibición del 17,52 mm.

### **4.3 Recomendaciones**

- Realizar la separación de los metabolitos secundarios del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)
- Realizar ensayos de toxicidad para las diversas fracciones del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta), a fin de garantizar su seguridad.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. infections in animals: a patchwork of different situations. Medical Mycology. 2018;56(1):S165-S187. Disponible: [https://academic.oup.com/mmy/article/56/suppl\\_1/S165/4925968](https://academic.oup.com/mmy/article/56/suppl_1/S165/4925968)
2. Sábada B, García E, Azanza J. Relación entre estructura y función en los azoles. Revista Esp. Quimioterapia, 2004; 17 (1):71-78
3. Treagan L. Candida and its role in opportunistic mycoses. California association for medical laboratory technology, p.1-19, 2011
4. Aguirre J. Candidiasis orales. Revista Iberoamericana de Micología, p. 17-21;2002
5. Agyare C, GA Koffuor, YD Boakye y KB Mensah, "Propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias de *Funtumia elastica* " , *Biología farmacéutica*, 2013; 51(4):418–425
6. X.-J. Huang, W. Ren, J. Li, L.-Y. Chen y Z.-N. Mei, "Actividades antiinflamatorias y anticancerígenas del extracto de etanol de raíz de *acónito pendular in vitro* " , *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* , 2013; 14 (6): 3569–3573.
7. AERM Donia, GAEH Soliman, MAEM El Sakhawy, H. Yusufoglu y AM Zaghoul, "Actividades citotóxicas y antimicrobianas de *Emex spinosa* (L.) Campd. extracto " , *Revista de Ciencias Farmacéuticas de Pakistán*, 2014; 27(2): 351–356.
8. Ministério da Saúde y Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), *Consulta Pública n. 38, de 22 de junio de 2009. Lista de Monografias Revisadas de Plantas Mediciniais e Derivados* , Ministério da Saúde, Brasília, Brasil, 2009.
9. Sterling T, Merz W. Resistance to amphotericin B: emerging clinical and microbiological patterns. Drug Resistance Update; 1998 1:161–165.

10. Tortorano A, Pirigitano A, Biraghi E, Viviani M. The European confederation of medical mycology survey of candidemia in Italy: in vitro susceptibility of 375 *Candida albicans* isolates and biofilm production. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2005; 56:777-779
11. JG Leite, É. HS Brito, RA Cordeiro et al., "Composición química, toxicidad y actividades larvicidas y antifúngicas de extractos de semillas de *Persea americana* (aguacate)", *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* , 2009; 42(2):110-113.
12. Carr, M.K.V., 2013. The water relations and irrigation requirements of avocado (*Persea americana* Mill.): a review. *Exp. Agric.* 49, 256278.
13. Ozdemir, F., Topuz, A., 2004. Changes in dry matter, oil content and fatty acids composition of avocado during harvesting time and post-harvesting ripening period. *Food Chem.* 86, 7983.
14. Meyer, M.D., Landahl, S., Donetti, M., Terry, L.A., 2011. Avocado. In: Terry, L.A. (Ed.), *Health-Promoting Properties of Fruits & Vegetables*. CABI International, Wallingford, pp. 2750.
15. Hurtado-Fernandez E, Pacchiarotta T, Mayboroda OA, Fernandez-Gutierrez A, Carrasco-Pancorbo A, 2015. Metabolomic analysis of avocado fruits by GC-APCI-TOF MS: effects of ripening degrees and fruit varieties. *Anal. Bioanal. Chem.* 407, 547555.
16. Dreher, M.L., Davenport, A.J., 2013. Hass avocado composition and potential health effects. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 53, 738750.
17. Unlu, N.Z., Bohn, T., Clinton, S.K., Schwartz, S.J., 2005. Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *J. Nutr.* 135, 431436.
18. Gunduz T, Gunduz K, Degerli K, Limonku M. Perfil epidemiológico de la oncomicosis en los ancianos que viven en hogares de ancianos. Artículo científico publicado en *Rev Med Geri Euro* (5).3 .2014: 172-174. [acceso: 23 de mayo del 2022]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.eurger.2013.11.012>

19. Puig M. Epidemiología y optimización del manejo clínico de la candidemia: Resultados de un estudio poblacional en España. [Tesis para optar al grado de Doctora en Medicina, Universidad Autónoma de Barcelona], España 2016.
20. Zurita S. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev Perú Med Expe Sal Pub. 2018 [acceso: 22/05/2022]; 35(01) Disponible en: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/3563/2997>
21. Abad-Hamided E, Zaini F., Kordbacheh P, Faridhel Z, Mahamoud M, Parivash K, Mashin S. Actividad in vitro de caspofungina contra especies de *Candida* resistentes a fluconazol aisladas de muestras clínicas en Irán. Jundishapur revista de microbiología 2015. [acceso: 23/05/2022]; 29(4): 1543-1547. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4548404/>
22. Calvo B, Melo A., Peroz A., Hernández M, Colombo A. Primer informe de *Candida auris* en Estados Unidos: Aspectos clínicos y microbiológicos de 18 episodios de candidemia. Diario de infección. 201 [acceso: 24/05/22]; 73. (4):369-374. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.07.008>
23. Canaza M y Misaray M. EFECTO ANTIFÚNGICO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Persea americana* (PALTA) EN CEPAS DE *Trichophyton rubrum*, IN VITRO. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad De Ciencias Farmacéuticas Y Bioquímica. 2018.
24. Floyd K., Efecto antibacteriano del extracto etanolico de *Persea americana* “palta” SOBRE *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con Oxacilina. Escuela Académico Profesional de Medicina. Universidad César Vallejo. Trujillo-2019.
25. Maravi I. Efecto antibacteriano in vitro del extracto etanólico de la semilla de *persea americana* (palta) en cepas de *staphylococcus aureus* atcc 25923. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. Lima-2019.

26. Leon B y Mattos L. Control de hongos fitopatógenos asociados a semillas de palto *Persea americana* Mill. (Lauraceae) In Vitro. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 5(3), 2690-2701.
27. Sanchez E. Efecto antibacteriano “in vitro” del extracto etanólico de la semilla de persea americana (palta) sobre *enterococcus faecalis* ATCC 29212. Universidad Nacional de Trujillo. Escuela de Posgrado, Trujillo-2016.
28. Makopa M, et al. Efectos antibacterianos, antifúngicos y antidiabéticos de extractos de hojas de *Persea americana* Mill. (Lauráceas). *Investigacion bioquimica internacional*. 2022;10 (1):1-10.
29. Audiline M. et al. Uso de los productos naturales de las hojas del árbol fructífero *Persea americana* contra *Candida* sp. biopelículas utilizando discos de resina acrílica. 2022;703 (1):134779.
30. Jesus D, Oliveira J, Oliveira F, Higa K, Junqueira J, Jorge A et al. *Persea americana* Glycolic Extract: In Vitro Study of Antimicrobial Activity against *Candida albicans* Biofilm and Cytotoxicity Evaluation. *The Scientific World Journal*. 2015;2015(1):1-5.
31. Adeyemi O, Okpo S, Ogunti O. “Efectos analgésicos y antiinflamatorios del extracto acuoso de hojas de *Persea americana* Mill (Lauraceae)” , *Fitoterapia*, 2002; 73(5):375–380, 2002.
32. Kim J, Sudbery P. *Candida albicans*, a major human fungal pathogen. *J Microbiol*, 2011; 49(2) : 171-77
33. Ponce Juan. Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y actividad fotoprotectora in vitro en una emulsión dermocosmética. Tesis para optar al Grado de Magister Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2019.
34. Kuklinski C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural, Reimpresión. Omega, 1999.

35. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*, 2003; 88(2): 199-204
36. Pérez-Acevedo I. Aspectos éticos de la investigación científica. *Rev Cienc.Enferm.*2002 [acceso:23/05/2022]. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95532002000100003](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95532002000100003)
37. Duraffourd C, Lapraz J, d' Hervicourt L. Cuadernos de fitoterapia clínica. Primera ed. Duraffourd C, editor. Barcelona: MASSON S.A.; 1987.
38. Ajavi O, et al. Evaluation of Antimicrobial Potency and Phytochemical Screening of *Persea americana* Leaf Extracts against Selected Bacterial and Fungal Isolates of Clinical Importance. *Microbiology Research Journal International*. , 2017;20(1): 1-11.
39. Moyo B, Mukanganyama S. “Efectos antibacterianos de los extractos de *Cissus welwitschii* y *Triumfetta welwitschii* contra *Escherichia coli* y *Bacillus cereus*”, *International Journal of Bacteriology* , 2015; 10(2): 23-25
40. Z. Ling, Z. Xu, W. Liang, J. Mei y H. Wang, “Actividad antibacteriana y modo de acción Extractos de etanol de *Mentha arvensis* contra *Acinetobacter baumannii* resistente a múltiples fármacos,” *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* , 2015; 11 (2): 2099–2106.
41. C. Fimognari, *Fitoquímicos dietéticos y no dietéticos y cáncer* , MDPI, Nueva York, NY, EE. UU., 1.ª edición, 2018.



## Anexo A. Operacionalización de variables

Variables	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida
<p><b>Variable Independiente</b></p> <p>Extracto hidroalcohólico de <i>Persea americana</i> “palta”</p>	<p>Mezcla de agua y alcohol de 70° y las hojas de <i>Persea americana</i> a “Palta”</p>	<p>Concentración del extracto hidroalcohólico de <i>Persea americana</i> “palta”</p>	<p>Tamizaje fitoquímico</p>	<p>Presencia de metabolitos secundarios</p>	<p>mg/mL</p>
<p><b>Variable Dependientes</b></p> <p>Actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	<p>Capacidad de una sustancia para inhibición el crecimiento micótico</p>	<p>Sensibilidad micótica frente al extracto hidroalcohólico de la palta obtenidas por medición del diámetro de los halos de inhibición</p>	<p>Inhibición del crecimiento micótico</p>	<p>Halo de inhibición (mm)</p>	<p>milímetros (mm)</p>

**Anexo B. Instrumentos de recolección de datos**

**Ensayo de solubilidad del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)**

<b>SOLVENTES</b>	<b>RESULTADO</b>
N-hexano	
Cloroformo	
Etanol	
Metanol	
Éter de petróleo	
Agua destilada	
Acetona	

Donde: (-) Insoluble (+) Poco soluble (++) Soluble (+++) Muy soluble

**Marcha fitoquímica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)**

<b>METABOLITOS SECUNDARIOS</b>	<b>ENSAYO</b>	<b>RESULTADO</b>
Compuestos fenólicos	Rvo. FeCl <sub>3</sub> 5%	
Taninos	Rvo. Gelatina 1%	
Flavonoides	Rvo. Shinoda	
Esteroides y triterpenoides	Rvo. Liebermann Burchard	
Cardenólidos	Rvo. Baljet	
Alcaloides	Rvo. Dragendorff	
	Rvo. Mayer	
Antraquinonas	Rvo. Borntranger	
Saponinas	Espuma persistente	

Donde: (+++) abundante    (++) Moderado    (+) Leve    (-) Ausencia

**Ensayo para el efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta) frente a *Candida albicans* ATCC 10231**

<b>CEPA</b>	<b><i>Candida albicans</i> ATCC 10231</b>			
<b>Concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta)</b>	<b>Halos de inhibición (mm)</b>			
<b>(%)</b>	<b>n</b>			<b>X</b>
<b>Repeticiones</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	
<b>100</b>				
<b>75</b>				
<b>50</b>				
<b>25</b>				
<b>Control positivo</b>				
<b>Control negativo</b>				

n: número de ensayos microbiológicos      X: promedio

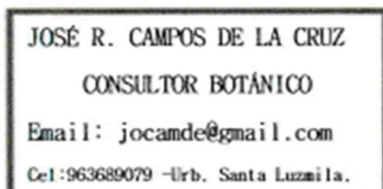
Leyenda: Escala interpretativa Duraffourd y Lapraz

- (-) Nula: Diámetro (< 8 mm)
- (+) Sensible bajo: Diámetro (8 - 14 mm)
- (++) Medio (muy sensible): Diámetro (14 - 20 mm)
- (+++) Sumamente sensible: Diámetro (> 20 mm)

## Anexo C. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
<b>Problema General</b>	<b>Objetivo General</b>	<b>Hipótesis General</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuál es el efecto antifúngico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill. (palta) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Evaluar el efecto antifúngico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill (palta) frente a <i>Cándida albicans</i> ATCC 10231.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill (palta) presenta efecto antifúngico <i>in vitro</i> frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.</li> </ul>
<b>Problemas Específicos</b>	<b>Objetivos Específicos</b>	<b>Hipótesis Específicas</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuáles son los principales metabolitos secundarios responsables del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta)?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Identificar los principales metabolitos secundarios responsables del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill (palta).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Los principales metabolitos secundarios responsables del efecto antifúngico del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill (palta) son los compuestos fenólicos y flavonoides.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuál será la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill. (palta) frente a <i>Candida albicans</i> que presenta mayor efecto antifúngico?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar la concentración del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill (palta) frente a <i>Candida albicans</i> que presenta mayor efecto antifúngico.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>La concentración al 75 % del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill (palta) frente a <i>Candida albicans</i> presenta mayor efecto antifúngico.</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>¿Cuál es el efecto antifúngico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill. (palta) frente a <i>Candida albicans</i> en comparación a fluconazol?</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Comparar el efecto antifúngico <i>in vitro</i> del extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill (palta) con fluconazol frente a <i>Cándida albicans</i>.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>El extracto hidroalcohólico de las hojas <i>Persea americana</i> Mill (palta) presenta efecto antifúngico <i>in vitro</i> en comparación con fluconazol frente a <i>Cándida albicans</i>.</li> </ul>
<b>PROCEDIMIENTO PARA COLECTA DE DATOS</b>		
Se seguirán los siguientes procesos: recolección y preparación del extracto hidroalcohólico de las hojas de <i>Persea americana</i> Mill (palta), ensayo de solubilidad, ensayo de la marcha fitoquímica, ensayo de la actividad antimicótica		

## Anexo D. Certificado de clasificación taxonómica



### CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO - CBP N° 3796 - INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

#### CERTIFICA.

Que, **Kelly Jenifer Curo Miranda** y **Deysi Erika Herrera Ríos**, estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, con fines de investigación han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta conocida con el nombre vulgar de "palta", la muestra fértil ha sido estudiada e identificada como: *Persea americana* Mill. Según la base de Tropicos que sigue el Sistema moderno de clasificación de las angiospermas (APG), publicado en 1998 por El Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), este Sistema de clasificación considera a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida (Chasse, MW y JL. Reavel. 2009), la muestra vegetal estudiada se ubica en las siguientes categorías taxonómicas.

**Reino: Plantae**

**División: Angiospermae**

**Clase: Equisetopsida**

**Subclase: Magnoliidae**

**Superorden: Magnolianae**

**Orden: Laurales**

**Familia: Lauraceae**

**Género: *Persea***

**Especie: *Persea americana* Mill.**

Nombre vulgar: "palta"

Se expide la presente certificación con fines de investigación científica.

Lima, 13 de octubre del 2021



JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 2. Urb. Santa Luzmila. Lima 07  
Email: jocamde@gmail.com; joricampos@yahoo.es

## Anexo E. Certificado del efecto antifúngico



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



### PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00076-CPF-2022

ORDEN DE ANÁLISIS : 000063/2022  
 SOLICITADO POR : HERRERA RÍOS, DEYSI ERIKA  
 DIRECCIÓN : ---  
 MUESTRA : EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE HOJAS  
*Persea americana mill. (PALTA)*  
 NÚMERO DE LOTE : ---  
 CANTIDAD : 01 frasco de 5mL aprox.  
 FECHA DE RECEPCIÓN : 15 de Febrero del 2022  
 FECHA DE FABRICACIÓN : ---  
 FECHA DE VENCIMIENTO : ---

MICROORGANISMO	Extracto hidroalcohólico de hojas <i>Persea americana Mill. (Palta)</i>					
	Longitud de halos de inhibición (mm)					
	Control positivo	Control negativo	100%	75%	50%	25%
<i>Candida albicans</i>	16.04	6	6	6	6	6
	18.42	6	6	6	6	6
	18.11	6	6	6	6	6

- El tamaño de los pocillos es de 6 mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición.
- Volumen inoculado: 40 uL.
- Concentración del inóculo:  $1 \times 10^8$  UFC/mL.
- Control positivo: Fluconazol 0,2 mg/mL.
- Control negativo: agua destilada.
- 100%, 75%, 50% y 25%: diluciones del extracto hidroalcohólico de hojas *Persea americana Mill. (Palta)*.

Lima, 08 de Marzo del 2022

Q.F. Paul Ivan Gutierrez Elescano  
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú  
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1  
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS  
Certification

N° BR23206



## Anexo F: Evidencias Fotográficas del desarrollo experimental



**Figura 1. Elaboración del macerado hidroalcohólico**

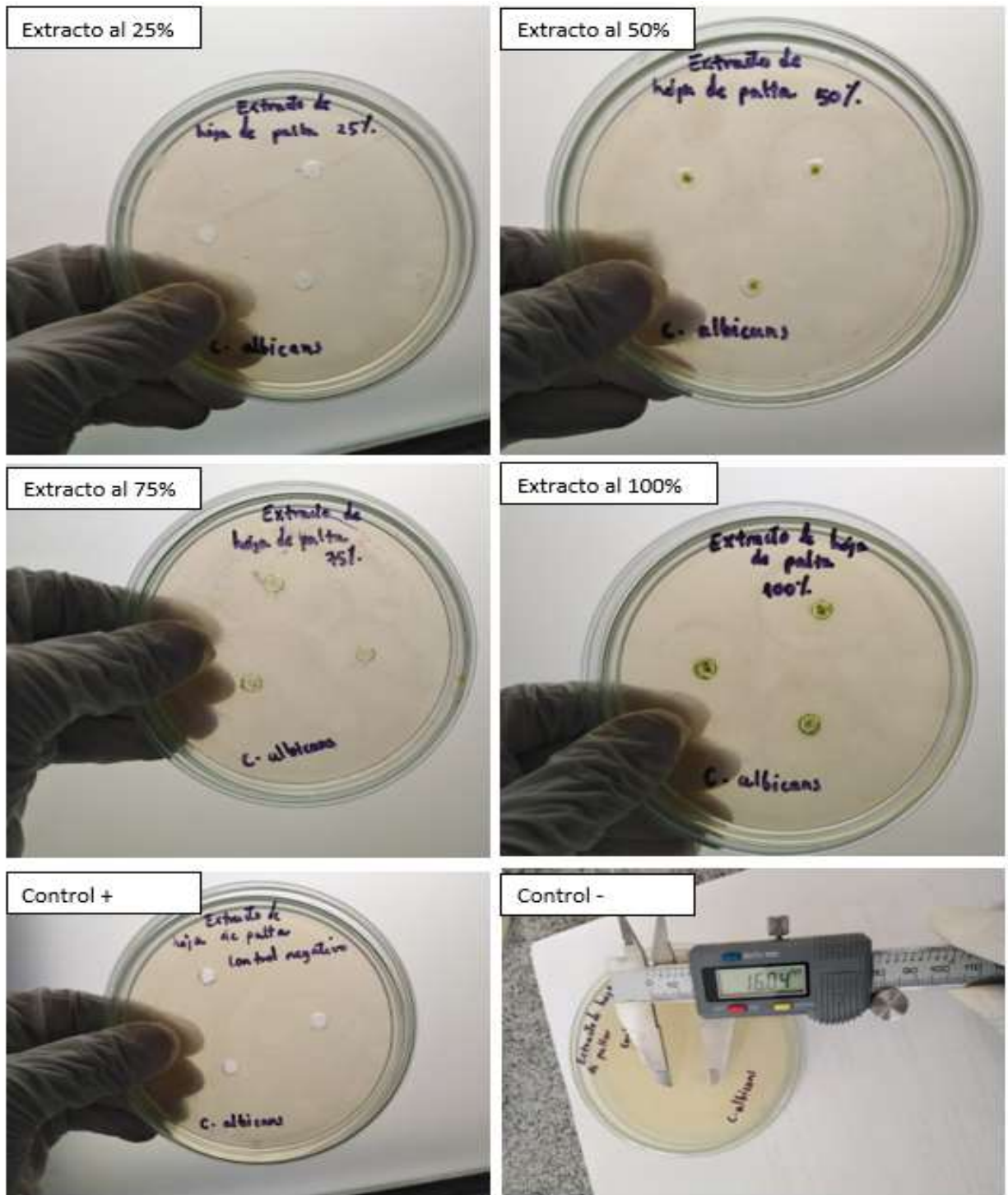
**Fuente: Elaboración propia**





**Figura 2. Proceso de obtención del extracto vegetal**

**Fuente: Elaboración propia**



**Figura 3. Halos de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Persea americana* Mill. (palta)**

**Fuente: Elaboración propia**

## Anexo G: Resolución de aprobación del Proyecto de Tesis



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

RESOLUCION N° 040-2022-FCSA-UMA

Lima, 31 de enero del 2022

### EL DECANO DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD DE LA UNIVERSIDAD MARIA AUXILIADORA

Visto: El informe de conformidad N°014-UDI-UMA/2022 Mg. Eduardo Percy Matta Solis del Proyecto de Tesis presentado por los Bachilleres en Farmacia y Bioquímica, **DEYSI ERIKA HERRERA RÍOS y KELLY JENIFER CURO MIRANDA.**

#### CONSIDERANDO:

Que, mediante el expediente presentado **DEYSI ERIKA HERRERA RÍOS y KELLY JENIFER CURO MIRANDA**, egresado de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica solicita la aprobación del Proyecto de Tesis "**EFFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE Persea americana Mill. (PALTA) FRENTE A LA CEPA DE Candida albicans ATCC 10231**".

Que, el mencionado documento cuenta con la aprobación del **Mg. Eduardo Matta Solis**, quien ha revisado el Proyecto de Tesis realizando las observaciones, correcciones y aprobación correspondiente, emiten el Dictamen favorable y su inscripción correspondiente;

Que, en tal sentido se inscribe el presente Proyecto de Tesis al libro de Inscripción de Proyecto de Tesis en la Oficina de Grados y Títulos;

Que, con tal motivo es menester dictar la resolución correspondiente;

Estando el Dictamen de la Comisión Revisora del Proyecto de Tesis en concordancia con las disposiciones reglamentarias vigentes, y en uso de las atribuciones a este Decanato, por la Ley Universitaria 30220, y el Estatuto de la Universidad;

#### RESUELVE:

**PRIMERO. - APROBAR** el Proyecto de Tesis: "**EFFECTO ANTIFÚNGICO IN VITRO DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LAS HOJAS DE Persea americana Mill. (PALTA) FRENTE A LA CEPA DE Candida albicans ATCC 10231**", presentado por los Bachilleres: de la Carrera Profesional de Farmacia y Bioquímica.

**SEGUNDO. - DEJAR ESTABLECIDO** que los bachilleres están en condiciones de continuar con el trámite respectivo para optar el Título Profesional, debiendo sujetarse a las disposiciones contenidas en el Reglamento de Grados y títulos, teniendo en cuenta los plazos aprobados.

REGÍSTRESE, COMUNÍQUESE Y ARCHÍVESE



Dr. Jhonnef Samaniego Joaquín  
Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud  
Universidad María Auxiliadora