

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, BAZAN SANTACRUZ ELISA, con DNI 47472461, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO¹ que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 20% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 06 días del mes de enero del año 2023.

BAZAN SANTACRUZ ELISA
DNI: 47472461

Mg. PABLO ANTONIO, LA SERNA LA ROSA
DNI: 06121495

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos - RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, PEREZ LUJAN CARMEN CONSUELO con DNI 40833795, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO² que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 20% y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregando la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 06 días del mes de enero del año 2023.



PEREZ LUJAN CARMEN CONSUELO
DNI: 40833795



Mg. PABLO ANTONIO, LA SERNA LA ROSA
DNI: 06121495

² Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos - RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Eucalyptus globulus*

INFORME DE ORIGINALIDAD



FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uroosevelt.edu.pe Fuente de Internet	7%
2	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	5%
3	Submitted to Universidad Maria Auxiliadora SAC Trabajo del estudiante	4%
4	repositorio.upao.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.uwiener.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	www.scielo.br Fuente de Internet	1%
7	Submitted to Universidad Alas Peruanas Trabajo del estudiante	1%
8	scienti.minciencias.gov.co Fuente de Internet	1%



**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS
HOJAS DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) FRENTE A
Candida albicans ATCC 10231, *IN VITRO***

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

AUTORES

Bach. BAZAN SANTACRUZ, ELISA

<https://orcid.org/0000-0003-4128-3740>

Bach. PEREZ LUJAN, CARMEN CONSUELO

<https://orcid.org/0000-0001-5137-3737>

ASESOR

Mg. LA SERNA LA ROSA, PABLO ANTONIO

<https://orcid.org/0000-0001-7065-012X>

LIMA – PERÚ

2023

DEDICATORIA

Esta tesis se la dedico a Dios, que me brindo la fuerza suficiente para seguir adelante y no rendirme ante los problemas que se me presentaban.

A mis queridos padres Segundo Perez y Consuelo Lujan, porque ellos me apoyaron en todo momento y me impulsaron a seguir adelante y así poder cumplir con mis metas.

Bach. Carmen Consuelo Perez Lujan

A Dios, por estar siempre conmigo, por guiarme en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino aquellas personas que siempre me apoyaron incondicionalmente.

A Mi madre Lucia y a toda mi familia por confiar en mí y estar siempre a mi lado, por su perseverancia y apoyo incondicional, que hicieron posible mi desarrollo personal y profesional.

Bach. Elisa Bazan Santacruz

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradecer a Dios por bendecirnos y hacer realidad nuestro sueño tan anhelado.

A nuestro asesor de tesis Mg. La Serna La Rosa, Pablo Antonio, por su apoyo incondicional, paciencia, orientación y asesoría en la elaboración de este estudio de investigación.

Finalmente expresar un profundo agradecimiento a toda nuestra familia, y a todos aquellos que siempre nos apoyaron incondicionalmente a lo largo de nuestros estudios.

Los autores

ÍNDICE GENERAL

Páginas

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
2.1. Enfoque y diseño de la investigación.....	19
2.2. Población, muestra y muestreo.....	19
2.3. Variables de investigación	20
2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	20
2.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	20
2.6. Procesamiento del análisis estadístico	22
2.7. Aspectos éticos.....	22
III. RESULTADOS	23
IV. DISCUSIÓN	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
ANEXOS	39

INDICE DE TABLAS

Páginas

Tabla 1. Solubilidad del aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) en diferentes solventes.....	23
Tabla 2. Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) con actividad antifúngica.....	24
Tabla 3. Actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) <i>Eucalyptus globulus</i> al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro	25
Tabla 4. Prueba de Distribución Normal para cada grupo de tratamientos	27
Tabla 5. Análisis de la Varianza (ANOVA)	27
Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey	28
Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antifúngica según la escala de Duraffourd	29

INDICE DE FIGURAS

Páginas

Figura 1: Actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) <i>Eucalyptus globulus</i> al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro	26
Figura 2. Obtención de la muestra vegetal de la zona de cultivo	49
Figura 3. Aplicación de criterios de inclusión y exclusión en la muestra vegetal..	50
Figura 4. Lavado de las hojas de eucalipto	51
Figura 5. Preparación del aceite esencial de las hojas de eucalipto	51
Figura 6. Prueba de solubilidad y estudio fitoquímico	53
Figura 7. Dilución del aceite de eucalipto a las concentraciones 50%, 75% y 100%.	54
Figura 8. Activación de la cepa de <i>Candida albicans</i>	55
Figura 9. Preparación del cultivo microbiológico	55
Figura 10. Sembrado del cultivo microbiológico	56
Figura 11. Preparación de pozos en agar	57
Figura. 12 Aplicación del aceite en placas con cepa.....	57

INDICE DE ANEXOS

Páginas

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos.....	39
Anexo 2. Matriz de consistencia.....	40
Anexo 3. Operacionalización de las variables.....	41
Anexo 4. Certificado de análisis de <i>Candida albicans</i> ATTC 10231	42
Anexo 5. Carta de presentación de los Bachilleres	44
Anexo 6. Carta de aceptación del propietario del terreno de cultivo	45
Anexo 7. Certificado botánico de la especie vegetal en estudio	46
Anexo 8. Metabolitos secundarios encontrados en el aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i>	47
Anexo 9. Principales estructuras de los metabolitos secundarios encontrados en el aceite esencial de <i>Eucalyptus globulus</i>	48
Anexo 10. Fotografías que muestran la ejecución de la investigación.....	49

RESUMEN

Objetivo: Demostrar la actividad antifúngica, del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Método: La metodología de investigación se basó en un enfoque cuantitativo, experimental tomando como muestra de estudio la especie vegetal de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) de la cual se consideró una muestra de 8 kilogramos de hojas para la obtención del aceite esencial por medio de la técnica de destilación por arrastre con vapor, la actividad antifúngica se determinó mediante la técnica de difusión en pozo, los datos recolectados fueron analizados por medio de pruebas estadísticas con un nivel de confianza del 95%.

Resultados: Los resultados obtenidos mostraron solubilidad el aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) al cloroformo, entre los metabolitos encontrados se identificó a los triterpenos, la actividad antifúngica se evaluó mediante las medidas de los halos de inhibición formados sobre este hongo en placas Petri, obteniendo halos de inhibición de $13,76 \pm 0,45$ mm para la concentración del aceite al 50%, al 75% fue de $14,83 \pm 0,36$ mm; al 100% fue de $16,28 \pm 0,42$ mm.

Conclusión: Se demostró que el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) a las concentraciones del 50%, 75% y 100% presentan actividad antifúngica frente a *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras clave: *Candida albicans*, *Eucalyptus globulus*, eucalipto, antifúngico, aceite esencial.

ABSTRACT

Objective: To demonstrate the antifungal activity of the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) against *Candida albicans* ATCC 10231.

Method: The research methodology was based on a quantitative, experimental approach, taking as a study sample the plant species of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus), from which a sample of 8 kilograms of leaves was considered to obtain the essential oil through the steam distillation technique, the antifungal activity was determined by the well diffusion technique, the data collected were analyzed by means of statistical tests with a confidence level of 95%.

Results: The results obtained showed solubility of the essential oil of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) to chloroform, among the metabolites found triterpenes were identified, the antifungal activity was evaluated by measuring the inhibition halos formed on this fungus in Petri dishes, obtaining inhibition halos of $13.76 + 0.45\text{mm}$ for the oil concentration at 50%, at 75% it was $14.83 + 0.36\text{mm}$; at 100% it was $16.28 + 0.42\text{mm}$.

Conclusion: It was shown that the essential oil of the leaves of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus) at concentrations of 50%, 75% and 100% have antifungal activity against *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: *Candida albicans*, *Eucalyptus globulus*, eucalyptus, antifungal, essential oil.

I. INTRODUCCIÓN

Se estima que en el Reino Fungí hay seis millones de especies distribuidas en todos los países, y van desde especies comestibles hasta aquellas que pueden afectar a los humanos de diferentes formas, provocando enfermedades, como las micosis. Estas enfermedades pueden ir desde micosis superficiales que afectan cabello, piel, uñas y/o superficies mucosas, que suelen ser benignas, ya que no son capaces de activar una respuesta inmune, hasta causar infecciones sistémicas graves, llegando a órganos internos, progresivas y letales, que si no se trata y diagnostica puede conducir a la muerte fúngicas¹

Estos hongos pueden ser patógenos primarios u oportunistas. Se estima que del 70 al 90% de las infecciones fúngicas humanas son causadas por el género *Cándida*, especialmente *Cándida albicans*, además de esta especie, el género tiene varias otras de importancia clínica y biológica. tales como: *Cándida glabrata*, *Cándida tropicalis*, *C. parapsilosis* y *Cándida guilliermondii* que pueden causar varios síndromes clínicos como candidiasis vulvovaginal, candidiasis oral y candidemia².

Globalmente, los casos por candidiasis han ido en aumento durante los últimos años. Algunos estudios demuestran que en Estados Unidos la septicemia tiene como cuarta causa al género *Cándida*. Se destaca, por ejemplo, que en América del Norte hay un predominio de *C. glabrata* entre las especies no albicans, mientras que en América del Sur hay un predominio de *Cándida parapsilosis* *Cándida tropicalis* en seis hospitales terciarios de Río de Janeiro y São Paulo, con 145 casos de candidemia, en el que se reveló algunas de las especies más frecuentemente aisladas, a saber: *C. albicans* (37%), *C. parapsilosis* (25%), *C. tropicalis* (24 %) y *C. glabrata* (4 %). También, en Brasil estimaron que existe la posibilidad de que más de 3,8 millones de su población puede padecer de infecciones fúngicas³.

En Ecuador las cifras por infecciones vaginales producidas por la levadura *Cándida* son muy frecuentes en la edad fértil, tal es el caso que en un estudio realizado en una universidad se encontró que el 55% de las féminas han tenido al menos un episodio de infección vaginal por hongos al año y un 9% informó haber padecido de 4 a más infecciones por *Cándida* durante el año. Asimismo, se indicó que el 50% de pacientes que utilizan prótesis dentales han padecido de estomatitis subprotésica cuyo agente causal fue *Cándida albicans*^{4,5}

En el Perú la incidencia de infecciones por *Cándida albicans* se ha relacionado con la automedicación irresponsable o un mal diagnóstico, estimando que solo el 20 o 30% de las mujeres que se automedican por *Cándida*, en realidad no la tienen. Además, la población femenina que acude a un médico del 11 al 38.4% sus síntomas están relacionados con problemas de flujo vaginal ocasionados por *Cándida albicans*⁶.

Por otra parte, el marco teórico que sustentará nuestro estudio, describirá a las variables propuestas:

En primer lugar, la especie *Eucalyptus globulus* es una planta vegetal que se encuentra dentro de la familia *Myrtaceae*. Esta familia proviene de Australia y se caracteriza por poseer variedades de árboles y arbustos, siendo su característica principal de esta familia la presencia de glándulas secretoras de aceites esenciales en sus órganos vegetativos y el tronco que se renueva en cada estación de su crecimiento. Abarca cerca de 150 géneros y 3500 especies distribuidas en todos los países. Las hojas del eucalipto en la etapa adulta llegan a medir hasta 30cm de largo, con forma lanceolada y ovalada en la base, presenta una coloración verde pálido a gris, en el envés de la hoja se encuentran las glándulas que contienen el aceite esencial, su peciolo es pequeño de 2 a 3cm y presenta una copa frondosa^{7,8}

Las glándulas secretoras del eucalipto contienen aceite esencial, el cual es obtenido por el hombre aplicando el método de arrastre de vapor a sus hojas. Este aceite de eucalipto se caracteriza por ser volátil, tener una consistencia líquida, de color amarillo que cambia oscureciendo su color en presencia de la luz o cuando es guardado por tiempos largos. Los estudios fitoquímicos del aceite de eucalipto demuestran la presencia de 1-8 cineol, isopulegol, citronelal, neoisopulegol, citronelol, cariofileno, α -pineno y linalol. El cariofileno, es un compuesto bioactivo relacionado con sus propiedades antialérgicas, anti anémicas, bactericidas y repelentes⁹

En segundo lugar, las especies que componen el género *Cándida* son levaduriformes, di fórnicas y aerobias, se reproducen sexualmente por gemación, formando colonias blancas. Este hongo forma parte del microbiota normal de diferentes regiones del cuerpo, como la cavidad oral, tracto genitourinario y gastrointestinal. Este tipo de levaduras son comensales para los humanos, pero en presencia de un desequilibrio del microbiota normal o una

supresión del sistema inmunológico, estas levaduras aumentan en cantidad y pueden dar lugar a patologías clínicas. La característica de *Candida albicans* está asociada con el polimorfismo celular, la alternancia morfológica entre formas de levadura y filamentosas. Se señala que las formas filamentosas aparecen cuando las defensas disminuyen, pues tienen ventajas para penetrar en el organismo, ya que la hifa es capaz de secretar sustancias que degradan componentes celulares y otros facilitando su penetración¹⁰.

Métodos de difusión: En los laboratorios de investigación de microbiología se utilizan métodos de difusión la potencia antimicrobiana de extractos, fracciones o sustancias puras o para investigar el antagonismo entre microorganismos.

Entre estos métodos, los más comunes se enumeran a continuación¹¹.

- Método de difusión del pozo de agar: El método de difusión de pozos en agar es ampliamente utilizado para evaluar la actividad antimicrobiana de plantas o extractos antimicrobianos. De manera similar al procedimiento utilizado en el método de difusión en disco, la superficie de la placa de agar se inocula extendiendo un volumen del inóculo microbiano sobre toda la superficie del agar, luego en un orificio con un diámetro de 6 a 8 mm se perfora asépticamente con un barrenador de corcho estéril o una punta y se introduce un volumen (20-100 µL) del agente antimicrobiano o solución de extracto a la concentración deseada en el pozo. Luego, las placas de agar se incuban en condiciones adecuadas dependiendo del microorganismo de prueba. El agente antimicrobiano se difunde en el medio agar e inhibe el crecimiento de la cepa microbiana ensayada.
- Método de difusión del tapón de agar: El método de difusión del tapón de agar se utiliza a menudo para resaltar el antagonismo entre microorganismos, y el procedimiento es similar al utilizado en el método de difusión en disco. Consiste en hacer un cultivo de agar de la cepa de interés en su medio de cultivo apropiado mediante rayas apretadas en la superficie de la placa, durante su crecimiento, las células microbianas secretan moléculas que se difunden en el medio agar. Después de la incubación, una

parcela o cilindro de agar se corta asépticamente con un barrenador de corcho estéril y se deposita en la superficie de agar de otra placa previamente inoculada por el microorganismo de prueba. Las sustancias se difunden desde el tapón al medio de agar. Luego, la actividad antimicrobiana de las moléculas secretadas microbianas se detecta por la aparición de la zona de inhibición alrededor del tapón de agar.

- Método de raya cruzada El método de raya cruzada se utiliza para detectar rápidamente antagonismos en microorganismos. La cepa microbiana de interés es sembrada por una sola raya en el centro de la placa de agar. Después de un período de incubación dependiendo de la cepa microbiana, la placa se siembra con los microorganismos probados por una sola raya perpendicular a la raya central. Después de una incubación adicional, las interacciones antimicrobianas se analizan observando el tamaño de la zona de inhibición.

Con respecto a los estudios internacionales referidos a nuestro estudio citamos a **Belén M. y col.**, que el 2020, en su investigación evaluaron mediante un estudio in vitro la acción antibacteriana de esencias aromáticas como el limón, la naranja, la mandarina, el eucalipto y el laurel, sobre bacterias responsable de infecciones como la cepa *Escherichia coli* ATCC, *Leuconostoc mesenteroides* y sobre *Lactobacillus plantarum* que es una bacteria benéfica. Todas las bacterias presentaron halos de inhibición desde 6mm hasta 19mm, en referencia a la esencia aromática de eucalipto, está formó un halo de 12.17mm, mientras que la esencia de laurel su acción fue moderada. Concluyendo que todas las esencias mencionadas si presentan acción antimicrobiana, pero destaca el aceite de eucalipto con un efecto bactericida superior a los otros aceites¹².

Cabezas, M., el 2021, en su investigación, realizando una caracterización química por medio de un cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas determinó como principales componentes del aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, el 1,8-cineol (eucaliptol), alfa-pineno, aromadendreno,

globulol, alfa-terpineol y alfa-gurjunene; con respecto a los halos de inhibición obtenidos por este aceite frente a *Candida albicans*, se observó diámetros de 10mm, 14,5mm y 18,4mm para las concentraciones del 50%, 75% y 100% respectivamente¹³.

Por su parte, **Da Silva S. y col.**, el 2019, definieron por objetivo evaluar la sensibilidad de las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* expuestas a los extractos etanólicos elaborados por maceración con las hojas de las especies *E. globulus* y *A. sativum*. En el desarrollo del estudio ambos extractos de las especies fueron efectivos contra *Staphylococcus aureus*, sin embargo, no efectivos contra *Escherichia coli*. Concluyendo que dichos extractos podrían ser utilizados como alternativas terapéuticas de origen natural¹⁴

También, **Argote F. y col.**, en el 2017, su investigación tuvo como objetivo investigar el efecto antibacteriano de esencias vegetales como el eucalipto, limón y mandarina sobre bacterias certificadas como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. Se formaron halos alrededor de los discos, siendo estos diámetros mayores para las esencias de eucalipto y de mandarina al ser expuestos sobre *Staphylococcus aureus*, con una concentración mínima inhibitoria de 6,8µL/mL, asimismo, la concentración máxima bactericida fue de 13,2µL/mL¹⁵

A nivel nacional, presentamos los estudios de **Uriol D. y col.**, que, en el 2021, publicaron su estudio, realizando in vitro el efecto antimicrobiano de extractos elaborados con agua y etanol a partir de los frutos de la planta de aguaymanto y de las hojas del eucalipto sobre *S. aureus*. Los extractos en todas sus concentraciones del aguaymanto no tuvieron efecto antimicrobiano, no obstante, el extracto de eucalipto al 100% si presento efecto formando un halo de 16mm, halo muy cercano al formado por el control positivo que fue de 16.3mm. Por lo tanto, el extracto de eucalipto al 100% si presenta efecto antibacteriano sobre *S.*

*aureus*¹⁶

Por su parte, **Montero M. y col.**, en el 2019, presentaron su estudio, cuyo propósito fue evaluar si las bacterias certificadas *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, son sensibles al efecto de las concentraciones del aceite esencial de eucalipto. Las concentraciones del 60% y 90% fueron las que mayor halo de inhibición formaron sobre *Staphylococcus aureus* a diferencia de *Escherichia coli* que fue menor, en base a este resultado el aceite esencial de eucalipto tiene mayor efecto bactericida sobre *Staphylococcus aureus*¹⁷

Durango O., el 2018, en su investigación “Comparación del efecto in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal” mediante la técnica de difusión en disco evaluó la concentración mínima fungicida (CMF) mediante la valoración del tamaño de los halos de inhibición formados por este hongo, la evaluación del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* a la concentración del 25% y 50% obtuvo halos de inhibición que variaron entre 6.0mm; mientras que la concentración del 75% y 100% obtuvieron halos de inhibición de 7.0mm y 8.9mm; por otro lado, el tamaño del halo de inhibición formado por el fluconazol fue de 39.4mm, mediante la comparación de la sensibilidad antifúngica según la Escala de Duraffourd se comprobó que *Candida albicans* presenta sensibilidad nula a las concentraciones del 25%, 50% y 75% del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* y es sensible a la concentración del 100%¹⁸.

El estudio realizado por **Marconi, D.**, el 2019, sobre el “Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* comparado con fluconazol, sobre *Candida albicans* ATCC 10231” evaluó el aceite a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% mediante el método de disco difusión de Kirby-Bauer encontrando halos de inhibición de 5,9mm; 12,2mm; 16,2mm y 18,0mm respectivamente, el fluconazol por su parte obtuvo halo de inhibición de 22,2mm¹⁹

Por último, **Amaya D.**, en el 2018, elaboró su estudio para evaluar el efecto antibacteriano sobre *Staphylococcus aureus*, del aceite esencial de eucalipto en las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% mediante la técnica microbiológica de Kirby-Bauer. Los resultados pudieron indicar que el efecto mayor ocurre con el aceite al 100% con un diámetro inhibitorio de 17.3mm, sin embargo, no pudo superar el halo de la oxacilina que fue de 35.4mm²⁰.

Juarez, J., el 2018, mediante su investigación “Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill (Eucalipto)” la cual se realizó en diferentes extractos de diferentes polaridades, donde se encontró que en el extracto clorofórmico existe presencia de triterpenos, en el extracto etanólico encontró aminoácidos, quinonas, triterpenos, azúcares, catequinas, flavonoides, resinas y taninos; en el extracto acuoso azúcares, flavonoides y taninos²¹

Los resultados que se obtengan en el desarrollo de la investigación, podrán servir como una nueva referencia, asimismo, se podrá resaltar las propiedades benéficas de la planta de eucalipto al ser expuesta a un hongo muy habitual en las personas y con una gran capacidad patógena, por lo tanto, podrá ser aprovechado en forma positiva en la salud de las personas, además, de contribuir a disminuir la resistencia fúngica, por ser una alternativa de origen natural.

El objetivo general planteado en el presente proyecto es demostrar la actividad antifúngica, del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) frente a *Cándida albicans* ATCC 10231, in vitro;

De la misma manera se plantea la siguiente hipótesis general: el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) presenta actividad antifúngica frente a *Cándida albicans*,

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque Cuantitativo. Debido a que se basó en procedimientos basados en métodos experimentales, rigurosos a partir de los cuales se emplearon distintas técnicas de recolección de datos. De diseño experimental, debido a que existe intervención por parte del investigador en las variables de estudio para demostrar la relación o cambio y transversal porque el momento de la recolección de datos se realiza en un solo periodo de tiempo^{22,23}.

2.2. Población, muestra y muestreo

La población de estudio estuvo conformada por la especie vegetal de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), fueron recolectados 12 kilogramos de hojas en el distrito de Miracosta, de la provincia de Chota ubicada en el departamento de Cajamarca, en las coordenadas 6.3998° de latitud Sur y 79.3011° de longitud Oeste, sobre los 2648 m.s.n.m.

La muestra de estudio empleada para la obtención del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) fue 8 kilogramos la cual se obtuvo por medio de un muestreo no probabilístico por conveniencia, teniendo en consideración los criterios de inclusión y exclusión^{24,25}.

Criterios de inclusión:

- Las hojas deben estar en estado fresco y recién recolectadas.
- No deben mostrar signos de contaminación o deterioro.
- Deben haber sido identificadas taxonómicamente.

Criterios de exclusión:

- Hojas que han sido tratadas con plaguicidas.
- Especie vegetal que no corresponda al lugar de recolección indicado.
- Otro tipo de especie o variedad de la planta.

2.3. Variables de investigación

Primera variable: Aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto).

- **Definición conceptual:** Sustancia oleosa extraída de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y que contienen principios activos.
- **Definición operacional:** Extracción por destilación con arrastre de vapor.

Segunda variable: Actividad antifúngica frente *Cándida albicans*.

- **Definición conceptual:** Capacidad de evitar o disminuir el crecimiento de los hongos (*Cándida albicans*)
- **Definición operacional:** Medida del tamaño del halo de inhibición

2.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Técnica: Observacional

Instrumento: Ficha de recolección de datos, donde se consigna las concentraciones y cantidades de los datos a recolectar en milímetros.

2.5. Plan metodológico para la recolección de datos

Recolección y selección de la muestra

Se realizaron las coordinaciones con el propietario del terreno de cultivo para la recolección de la planta, se seleccionó una muestra representativa para la realización del estudio taxonómico por un especialista y posteriormente se recolectó 12 kilogramos de hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), las cuales fueron transportadas envueltas en papel Kraft y transportadas directamente al laboratorio⁹.

En el laboratorio se procedió al lavado con agua potable y posterior desinfección por 3 minutos con hipoclorito de sodio al 0.1%.

Obtención del aceite esencial:

Se procedió al armado del equipo de destilación por arrastre de vapor y se colocó dentro del contenedor de la muestra 500 G de hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), se selló herméticamente el equipo y colocó las líneas de agua al refrigerante y la salida al desagüe, se realizó la destilación por 5 horas aproximadamente, el proceso se repitió hasta agotar la muestra, el aceite obtenido junto con el agua fue recolectado a la salida del refrigerante, en una pera de decantación donde se separó el aceite del agua.

El aceite obtenido se preparó a las concentraciones del 50%, 75% y 100%, empleando como agente disolvente dimetilsulfóxido (DMS)

Evaluación del efecto antifúngico

La activación de las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, adquiridas del laboratorio Microbiologics, se realizó mediante la aplicación en estrías en placa Petri con el medio de cultivo Agar Sabouraud y luego puesta en incubación por 48 horas a 35 °C.

Se identificó posteriormente el crecimiento de las colonias en la placa y extrajo 2 a 3 colonias de la placa con un hisopo, luego se suspendió en un tubo de ensayo con 10 ml de solución salina fisiológica y realizó diluciones seriadas de 1 en 10 hasta obtener la concentración de 0.5 en la escala de MacFarland.

Ya esta última disolución fue considerada el inóculo de trabajo del cual se realizaron los sembrados en placas Petri en agar Müller Hinton, se dejó secar por 10 minutos y posteriormente se prepararon 3 pocitos en una placa correspondiente a las concentraciones del 100%, 75% y 50% del aceite de hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) y en otra placa se prepararon dos pocitos correspondientes a los controles negativo y positivo. Luego se aplicó 30 microlitros en cada pocito respectivamente sea

los grupos experimentales o grupos control y llevó a incubación a 35 °C por 24 horas^{20,26,27}.

Recolección de datos

Luego del periodo de incubación se procedió a retirar las placas y visualizar los halos de inhibición formados, posteriormente se midió el diámetro del halo de inhibición con un vernier digital, los datos recolectados se registraron en la ficha de recolección de datos para posteriormente ser analizados mediante un software estadístico.

2.6. Procesamiento del análisis estadístico

Los datos recolectados fueron analizados mediante el software estadístico SPSS versión 26, inicialmente se procedió a realizar una estadística descriptiva de los parámetros estadísticos en torno a la media y posteriormente se aplicó una estadística inferencial para determinar el comportamiento normal de los datos mediante la prueba de Shapiro Wilk, luego de esto se procedió a realizar la prueba de ANOVA y de Tukey que permitió comparar los grupos de tratamientos experimentales y control²⁸.

2.7. Aspectos éticos

Debido al tipo de estudio que se realizó, se tuvo extremo cuidado en el daño al medio ambiente y riesgo de los investigadores y personal de apoyo en el manejo de muestras con microorganismos con capacidad infectiva, en tal sentido, se aplicaron los protocolos y buenas prácticas en laboratorios de ensayo. Asimismo, se realizó la inactivación de las muestras biocontaminadas mediante la técnica de auto clavado^{29,30}.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Solubilidad del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en diferentes solventes

Tubo	Solvente empleado	Solubilidad en el solvente
1	Alcohol Terbutílico	-
2	Acetona	++
3	Agua destilada	-
4	Cloroformo	+++
5	Hexano	+
6	Etanol	+
7	Metanol	+
8	Dimetil-sulfóxido	++

Leyenda:

- ❖ (+++): Soluble
- ❖ (++) : Medianamente soluble
- ❖ (+): Ligeramente soluble
- ❖ (-): insoluble

Interpretación:

En la **tabla 1.** se observan los resultados del análisis de solubilidad del aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) en diferentes solventes, observándose que este es soluble en cloroformo, es medianamente soluble en dimetil-sulfóxido y acetona; ligeramente soluble en hexano, etanol, metanol y es insoluble en agua destilada y alcohol ter-butílico. El aceite muestra mayor afinidad por solventes con características polares debido a sus características lipofílicas.

Tabla 2. Identificación de los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) con actividad antifúngica

Metabolitos Secundarios	Reactivos	Reacción	Resultado
Alcaloides	Dragendorff	Color naranja ladrillo	+
Quinonas	Borntrager	Coloración rosa-rojiso	-
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	Coloración rojo-vinoso	+
Taninos		Coloración verdosa	-
Mucílagos		Aspecto gelatinoso	-
Flavonoides	Antocianidina	Anillo marron interfase	+
Triterpenos / Esteroides	Liebermann Burchard	Coloración rojisa	+++
Aceite y grasas	Sudan III	Rojo intenso	+++
Saponinas	Espuma	Formación de espuma	-

Leyenda:

Ausente (-)
 Escaso (+)
 Moderado (++)
 Abundante (+++)

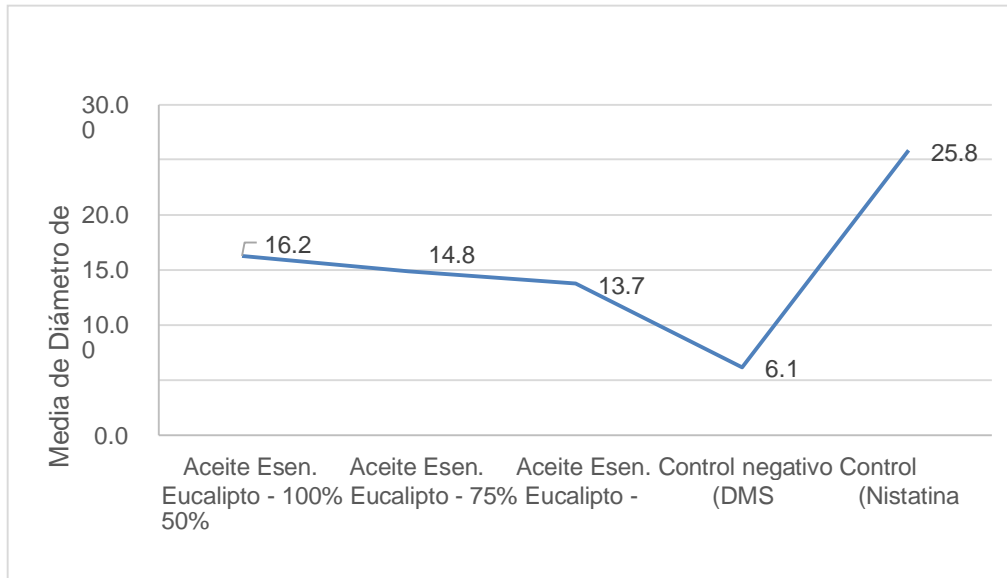
En la tabla 2 se muestra el resultado de la marcha fitoquímica obtenida al exponer el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) a diferentes reactivos los cuales al reaccionar con las estructuras moleculares de los metabolitos muestran cambios de coloración, precipitado, turbidez, entre otros; los metabolitos secundarios encontrados son triterpenos, grasas y aceites en cantidad abundante; compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides en cantidad escasa y no se evidenció presencia de quinonas, taninos, mucílagos y saponinas.

Tabla 3. Actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231, in vitro

DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)									
	N°	Media	Desv. Estándar	Error Estándar	95% Intervalo de confianza para la Media		Mínimo	Máximo	
					Límite inferior	Límite superior			
Aceite Eucalipto - 100%	Esen. 10	16,28	0,42	0,13	15,98	16,57	15,50	16,98	
Aceite Eucalipto - 75%	Esen. 10	14,83	0,36	0,11	14,57	15,09	14,26	15,43	
Aceite Eucalipto - 50%	Esen. 10	13,76	0,45	0,14	13,44	14,08	13,05	14,53	
Control (DMS)	negativo 10	6,17	0,36	0,11	5,91	6,43	5,74	6,81	
Control (Nistatina)	Positivo 10	25,84	0,53	0,17	25,45	26,22	25,04	26,82	

En la **tabla 3**. Se puede apreciar el análisis realizado a los datos del tamaño del halo de inhibición de cada grupo de análisis mediante el programa SPSS versión 26 para obtener los datos estadísticos como media, desviación estándar, los límites de confianza y valores máximo y mínimo encontrados de los valores promedio de los halos de inhibición obtenidos por el aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231, obteniendo valores promedio de halo de inhibición de $13,76 \pm 0,45$ mm para la concentración del aceite al 50%, al 75% fue de $14,83 \pm 0,36$ mm; al 100% fue de $16,28 \pm 0,42$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (DMS) obtuvo halo de inhibición de $6,17 \pm 0,36$ mm y el control positivo obtuvo halo de $25,84 \pm 0,53$ mm; demostrando efecto actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231, al ser comparados los halos de inhibición formados con el grupo control negativo.

Figura 1: Actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231, in vitro



En la **figura 1.** permite observar de manera visual los promedios de los halos de inhibición con su respectivo rango de variación con respecto a la media, del mismo modo, se observa el comportamiento comparado del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100%, observándose un efecto inhibitorio superior contra *Candida albicans* ATCC 10231 a mayores concentraciones, así mismo, se observan diferencias significativas entre los halos de inhibición de los grupos control con respecto a los grupos experimentales.

Análisis comparativo de la actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* con Nistatina 100mg/ml frente *Cándida albicans* ATCC 10231, in vitro.

Hipótesis de contrastación

H₀: El aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* no presenta mayor actividad antifúngica *in vitro* que la nistatina 100mg/ml frente *Cándida albicans* ATCC 10231

H₁: El aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* presenta mayor actividad antifúngica *in vitro* que la nistatina 100mg/ml frente *Cándida albicans* ATCC 10231

Análisis de los datos recolectados

Tabla 4. Prueba de Distribución Normal para cada Grupo de Tratamientos

	Grupos de trabajo	Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.
Diámetro Del Halo De Inhibición (Mm)	Aceite Esen. Eucalipto - 100%	0,963	10	0,817
	Aceite Esen. Eucalipto - 75%	0,962	10	0,810
	Aceite Esen. Eucalipto - 50%	0,941	10	0,566
	Control negativo (DMS)	0,938	10	0,531
	Control Positivo (Nistatina)	0,984	10	0,985

Interpretación:

Se muestra el análisis realizado las pruebas de Shapiro-Wilk para confirmar la distribución normal de los datos analizados, con un nivel de confianza del 95,00%, se observa que el nivel de significancia calculado en tabla supera el nivel de significancia de 0,05 establecido por el estudio, por lo tanto, se confirma que todos los grupos analizados presentan distribución normal.

Tabla 5. Análisis de la Varianza (ANOVA)

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	1979,59	4,00	494,90	2682,41	0,00
Dentro de grupos	8,30	45,00	0,18		
Total	1987,89	49,00			

Interpretación:

Se observa en la **tabla 4**, la prueba de ANOVA o análisis de la varianza aplicada a los grupos de los datos mediante el programa SPSS versión 26, luego del análisis se observa un p-valor obtenido menor al nivel de

significancia del estudio; por lo tanto, la prueba nos confirma que existe diferencia estadísticamente significativa en al menos uno de los grupos de datos.

Tabla 6. Análisis por sub grupos homogéneos mediante la prueba de Tukey

DIÁMETRO DE INHIBICIÓN						
HSD Tukey ^a						
Grupos de trabajo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Control negativo (DMS)	10	6,16				
Aceite Esen. Eucalipto - 50%	10		13,75			
Aceite Esen. Eucalipto - 75%	10			14,83		
Aceite Esen. Eucalipto - 100%	10				16,27	
Control Positivo (Nistatina)	10					25,83
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 15,000.

Interpretación:

La tabla 5, muestra un análisis complementario a la prueba de ANOVA el cual se realizó mediante la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos, este análisis determinó diferencias estadísticamente significativas entre todos de los grupos de los datos mostrando en la tabla superior según niveles el grado de estas según tamaño de halo de inhibición. Se observa que el control positivo de nistatina obtuvo mayor efecto inhibitorio sobre *Candida albicans* ATCC 10231®, seguido por las concentraciones al 100%, 75% y 50% del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* respectivamente y finalmente el control negativo se ubica en el nivel inferior sin actividad antifúngica sobre *Candida albicans* ATCC 10231.

Conclusión:

Del análisis de los datos se rechaza la Hipótesis alterna y se acepta la hipótesis Nula que indica que el aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* no presenta mayor actividad antifúngica *in vitro* que la nistatina frente *Cándida albicans* ATCC 10231.

Tabla 7. Comparación de la sensibilidad antifúngica según la escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula ≤ 8 mm	Sensible 8–14 mm	Muy sensible 15-20 mm	Altamente sensible > 20 mm
Control negativo (DMS)	6,16			
Aceite Esen. Eucalipto - 50%		13,75		
Aceite Esen. Eucalipto - 75%			14,83	
Aceite Esen. Eucalipto - 100%			16,27	
Control Positivo (Nistatina)				25,83

En la **tabla 6**, se muestra la escala comparativa de Duraffourd mediante la cual se puede determinar la sensibilidad de *Candida albicans* con respecto a los grupos de trabajo, se observa que este hongo es altamente sensible al control positivo (nistatina), Muy sensible al aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 100% y 75%, así mismo, es sensible al aceite al 50% y presenta sensibilidad nula al control negativo.

IV. DISCUSIÓN

4.1. Discusión de Resultados

Los datos que se discuten a continuación muestran los resultados obtenidos del análisis fitoquímico realizado al aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), así mismo, el análisis estadístico de los datos recolectados para la determinación de la actividad antifúngica frente a *Candida albicans*, los que se compararán con los resultados obtenidos por otros autores relacionados con el presente estudio.

Mediante la prueba de solubilidad se logró determinar las características físico-químicas de la muestra de análisis, por afinidad con los solventes empleados, encontrando que el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), es soluble en cloroformo, es medianamente soluble en dimetil-sulfóxido y acetona; lo que demuestra que presenta características netamente apolares y lipofílicas.

Con respecto, al estudio fitoquímico cualitativo realizado al aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), mediante reacciones de colocación y precipitación, se identificó la presencia de triterpenos, grasas y aceites en cantidad abundante; compuestos fenólicos, flavonoides y alcaloides en cantidad escasa. Juárez, J. (2018) por su parte, en su investigación determinó los metabolitos contenidos en diferentes extractos de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) encontrando en el extracto clorofórmico presencia de triterpenos, en el extracto etanólico encontró aminoácidos, quinonas, triterpenos, azúcares, catequinas, flavonoides, resinas y taninos; en el extracto acuoso azúcares, flavonoides y taninos.

Por otro lado, Cabezas, M (2021) empleando la técnica de cromatografía de gases acoplada a detector de masas logró determinar los metabolitos presentes en el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*, identificando entre estos a 1,8-cineol (eucaliptol), alfa-pineno, aromadendreno, globulol, alfa-terpineol y alfa-gurjunene entre otros, siendo los mencionados los que presentan mayor concentración. En los estudios presentados se confirma la

presencia de triterpenos como componentes principales y en mayor concentración en el aceite de eucalipto, sin embargo, no es el único componente presente puesto que también existe presencia de ciertos flavonoides y compuestos fenólicos, entre otros, pero en menor concentración.

Por otro lado, se evaluó la actividad antifúngica que presenta el aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231 mediante el método microbiológico de difusión en pozo, para lo cual se valoró esta actividad según el tamaño de los halos de inhibición formados en los cultivos de este hongo, obteniendo como resultados halo de inhibición de $13,76 \pm 0,45$ mm para la concentración del aceite al 50%, al 75% fue de $14,83 \pm 0,36$ mm; al 100% fue de $16,28 \pm 0,42$ mm; por otro lado, el control negativo empleado (DMS) obtuvo halo de inhibición de $6,17 \pm 0,36$ mm y el control positivo obtuvo halo de $25,84 \pm 0,53$ mm; el valor superior obtenido con respecto al control negativo indica actividad antifúngica contra este hongo, así mismo, valores similares al obtenido por el control positivo indicaría la fuerza de esta actividad antifúngica por parte del aceite esencial. Los resultados obtenidos por Cabezas, M (2021) sobre la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* contra *Candida albicans*, mostró halos de inhibición de 10mm, 14,5mm y 18,4mm para las concentraciones del 50%, 75% y 100% respectivamente, resultados que se corroboran con los encontrados en el estudio. Así mismo estos resultados se corroboran con los obtenidos por Marconi, D (2019) al evaluar de igual manera el efecto antimicótico de *Eucalyptus globulus* frente a *Candida albicans* a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% mediante el método de disco difusión de Kirby-Bauer, encontró halos de inhibición de 5,9mm; 12,2mm; 16,2mm y 18,0mm respectivamente.

Por el contrario, el estudio realizado por Durango O. (2018) se contraponen en cuanto a los resultados encontrados al evidenciar que el efecto in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal mostró halos de inhibición a la concentración del 25% y 50% que variaron entre 6.0mm; mientras que la

concentración del 75% y 100% obtuvieron halos de inhibición de 7.0mm y 8.9mm. Esta situación presentada no muestra un efecto evidente del aceite de *Eucalyptus globulus* sobre *Candida albicans* contrario a los resultados obtenidos en otros estudios presentados, pero hay que tener en consideración que la cepa empleada en este último estudio no corresponde a una ATCC, sino a una cepa de campo, la que puede tener cierto grado de resistencia al ser obtenida de pacientes con Candidiasis vaginal, lo que puede marcar las diferencias encontradas en los estudios.

Algunos autores han demostrado la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus*, como el estudio realizado por Belén M. y col. al (2020), donde al exponer el aceite esencial de eucalipto lograron encontrar halos de inhibición promedio de 12.17mm, para diferentes microorganismos como *Escherichia coli* ATCC, *Leuconostoc mesenteroides* y sobre *Lactobacillus plantarum*.

Un estudio similar realizado por Montero M. y col. al (2019) evaluó el efecto antibacteriano sobre *E. coli* y *S. aureus*, del aceite de eucalipto a las concentraciones del 60% y 90%, donde se logró demostrar actividad antibacteriana sobre ambas bacterias siendo esta superior a las mayores concentraciones del aceite. Así mismo, Amaya D. (2018) enfrentó el aceite esencial de eucalipto a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% frente a *S. aureus*, mediante la técnica microbiológica de Kirby-Bauer obteniendo un halo de inhibición mayor de 17.3mm para la concentración del 100% frente a esta bacteria.

Así mismo, el extracto etanólico de las hojas de *E. globulus* fueron sometidas frente a bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* como reportan en su estudio Da Silva S. y col. al (2019), encontrando actividad antibacteriana solo frente a *Staphylococcus aureus*, resultados contrarios se observaron en el estudio de Argote F. y col. (2017) y otros, donde sí se logró determinar actividad antibacteriana contra estas dos bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus* con una concentración mínima inhibitoria de 6,8µL/mL y una concentración máxima bactericida de 13,2µL/mL.

Del mismo modo, Uriol D. y col. al (2021), encontró actividad antibacteriana de los extractos acuoso y etanólico de las hojas de eucalipto contra *Staphylococcus aureus*, presentando el extracto etanólico un halo de inhibición de 16.0 mm similar al grupo control positivo empleado.

Evidentemente la mayoría de los estudios realizados sobre el aceite y extracto de las hojas de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus*, se han enfocado en la determinación de su actividad antibacteriana, no se han encontrado registro sobre su actividad antimicótico, sin embargo, los hallazgos encontrados sobre otros microorganismos respaldan su actividad antifúngica sobre *Candida albicans* encontrada en este estudio.

Por otro lado, al contrastar la actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* con la nistatina frente *Cándida albicans* ATCC 10231 mediante el análisis estadístico inferencial con un nivel de significancia de 0.05 se logró demostrar que evidentemente existe diferencia estadísticamente significativa entre los valores de los halos de inhibición comparados con el grupo control negativo, por lo tanto, existe evidencia suficiente para concluir que el aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* presenta actividad antifúngica frente *Cándida albicans*, por otro lado, el análisis comparativo contra el grupo control positivo demostró que la actividad antifúngica es inferior a la obtenida por parte del grupo control.

Además, se determinó la Sensibilidad antifúngica del *Cándida albicans* frente a los grupos de trabajo empleados mediante la escala de Duraffourd, encontrando que este hongo presenta **sensibilidad nula** al control negativo empleado (Dimetil-sulfóxido), es **sensible** al aceite esencial de esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, es **muy sensible** a la concentración del aceite esencial al 75% y 100%, y es **altamente sensible** al grupo control positivo conformado por la nistatina.

4.2. Conclusiones

1. El solvente que presenta mejor solubilidad en el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) es el cloroformo.
2. Los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de *Eucalyptus globulus* (eucalipto) con actividad antifúngica corresponde a los triterpenos.
3. La actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* al 50%, 75% y 100% frente a *Candida albicans* ATCC 10231, in vitro se evidenció mediante la formación de los halos de inhibición obteniendo valores de $13,76 \pm 0,45$ mm para la concentración del aceite al 50%, al 75% fue de $14,83 \pm 0,36$ mm; al 100% fue de $16,28 \pm 0,42$ mm.
4. La actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* frente *Cándida albicans* ATCC 10231, in vitro resultó ser menor que la de Nistatina 100mg/ml

4.3. Recomendaciones

- ✓ El estudio del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) *Eucalyptus globulus* evidencia actividad antimicrobiana frente a diferentes microorganismos, sin embargo, se pueden realizar estudios sobre esta actividad en microorganismos no ensayados
- ✓ Se recomienda realizar estudios complementarios empleando los extractos y aceites de *Eucalyptus globulus* para evaluar el efecto sinérgico con otros antibióticos o antifúngicos.
- ✓ Emplear el aceite esencial en el tratamiento de infecciones micóticas mediante preparados galénicos que demuestren actividad antimicrobiana.
- ✓ Evaluar por separado el efecto de los metabolitos presentes en *Eucalyptus globulus* mediante técnicas cromatográficas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Mantilla Y, Tuta E, Brito A, Clavijo L. Candidiasis y *Candida albicans*. Bol Malariol Salud Ambient [Internet]. 2021 Jul 1;61(3):391–400. Available from:
<https://scholar.archive.org/work/gxciosre4beajb4drztiftuf14/access/wayback/http://iaes.edu.ve/iaespro/ojs/index.php/bmsa/article/download/334/487>
2. Talapko J, Juzbasic M, Matijevic T, Pustijanac E, Bekic S, Kotris I. *Candida albicans*—The Virulence Factors and Clinical Manifestations of Infection. Journal of Fungi [Internet]. 2021 [cited 2022 Apr 26];7(2):78–9. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/2/79/htm>
3. Moreno J, Burbano A. Uso de Quinolonas como Factor de Riesgo para Infección Oportunista Severa por *Cándida* en Pacientes Adultos Críticamente Enfermos. Gaceta Médica Boliviana [Internet]. 2021 [cited 2022 Jun 9];44(2):225–32. Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1012-29662021000200225&lng=es&nrm=iso&tlng=es
4. Zurita J. Infecciones micóticas: esas enfermedades relegadas de la salud pública. Bionatura. 2017;2(3):344–7.
5. Mosquera V., Romero M. VA y ZP. Prevalencia de estomatitis subprotésica asociada a *Candida albicans* en pacientes portadores de prótesis total superior en asilos en el Valle de los Chillos, Ecuador. Odontología Activa Revista Científica. 2020;5(3):1–6.
6. Herreras L, Cárdenas V. Perfil de resistencia antifúngica en el tratamiento de candidiasis vaginal: Un diagnóstico de agentes etiológicos. Revista Habanera de Ciencias Médicas [Internet]. 2022;21(2). Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1729-519X2022000200011&script=sci_arttext&tlng=en
7. Carretero M. y Ortega T. Eucalipto en afecciones respiratorias. Universidad Complutense de Madrid. 2018;7.
8. Bruneton J. Farmacognosia: Fitoquímica. Plantas medicinales. 2da ed. Editorial Acribia, S.A.; 2010.
9. Cedeño A., Moreira C., Muñoz J., Muñoz A. PS y RM. Comparación de métodos de destilación para la obtención de aceite esencial de eucalipto.

- Revista Colón Ciencias, Tecnología y Negocios. 2019;6(1):10.
10. Naglik J, Gaffen S, Hube B. Candidalysin: discovery and function in *Candida albicans* infections. *Curr Opin Microbiol* [Internet]. 2019 Dec 1;52:100–9. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369527418300948>
 11. Balouri M, Sadiki M, Ibsouda SK. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2016 Apr 1;6(2):71.
 12. Belén M. SM y AA. Actividad Antimicrobiana de Diversos Aceites Esenciales en Bacterias Benéficas , Patógenas y Alterantes de Alimentos. *Revista Tecnológica y Ciencia*. 2020;92:92–100.
 13. Cabezas M. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus*, *Rosmarinus officinalis* y *Cymbopogon citratus* frente a cepas ATCC. Universidad Central del Ecuador; 2021.
 14. Da Silva S. PB y CA. Estudio y evaluación de la acción antibacteriana de *Eucalyptus globulus* L. y *Allium sativum* L. sobre bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigacion Cientifica*. 2019;1(2):19.
 15. Argote F., Suarez Z., Tobar M., Perez J. HA y DJ. Evaluación de la capacidad inhibitoria de aceites esenciales en *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. *Bioteología en el sector agropecuario y agroindustrial*. 2017;2(2):52–60.
 16. Uriol D. y Espinoza M. Actividad antimicrobiana in vitro de los extractos hidroalcohólicos de frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) y de hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill) frente a *Staphylococcus aureus*. *ArnaldoA*. 2019;28(1):115–24.
 17. Montero M., Morocho M., Avilés D. CÁ y ER. Eficacia antimicrobiana del aceite esencial de eucalipto (*Eucalyptus* spp) sobre cepas de *E. coli* y *Staphylococcus aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru*. 2019;30(2):932–8.
 18. Durango O. Comparación del efecto in vitro de los aceites esenciales de *Eucalyptus globulus* y *Origanum vulgare* sobre *Candida albicans* aislada de paciente con candidiasis vulvovaginal. Universidad Privada Antenor Orrego; 2018.
 19. Marconi D. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de *Eucalyptus*

- globulus comparado con fluconazol, sobre *Cándida albicans* ATCC 10231. Universidad César Vallejo; 2019.
20. Amaya D. Efecto antimicrobiano del aceite esencial de *Eucalyptus globulus* (eucalipto), sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina. Universidad César Vallejo. 2018.
 21. Juárez J. Estudio de las características fisicoquímicas y fitoquímicas de las hojas de *Eucalyptus globulus* Labill (*Eucalipto*). Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018.
 22. Anonimo. El diseño de investigación experimental [Internet]. 2016. Available from: http://histologia.ugr.es/pdf/Metodologia_III.pdf
 23. Kuehl R. Diseño de Experimentos. Vol. 43, *Technometrics*. 2016. 236–237 p.
 24. Hernández C, Carpio N. Introducción a los tipos de muestreo. *Revista Científica del Instituto Nacional de Salud "Alerta"* [Internet]. 2019;2(1):75–9. Available from: <https://alerta.salud.gob.sv/introduccion-a-los-tipos-de-muestreo/>
 25. Lopez P. Poblacion, muestra y muestreo. *Punto cero* [Internet]. 2016 [cited 2022 May 16];09(08). Available from: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1815-02762004000100012
 26. FONTALVO J. Preparación De Medios De Cultivos. *Manual de practicas de laboratorio de Microbiología*. 2018.
 27. Cervera C. *Candidiasis crónica: El síndrome oculto del siglo XXI* [Internet]. Google Libros. [cited 2020 Aug 3]. Available from: <https://books.google.com.pe/books?id=0u54DwAAQBAJ&printsec=frontcover&dq=cándida+albicans+pdf&hl=es-419&sa=X&ved=2ahUKEwj8irz-3v7qAhXKCrkGH8PCiMQ6AEwAHoECAIQAg#v=onepage&q=cándida+albicans+pdf&f=false>
 28. Díaz V. *Metodología de la Investigación Científica y Bioestadística*. 2da ed. RIL®, editor. Chile: Universidad Finis Terrae; 2010. 564 p.
 29. Zavala S. y Alfaro J. Ética e investigación [Internet]. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*. 2017 [cited 2021 Jun 1]. Available from: <https://rpmesp.ins.gob.pe/index.php/rpmesp/article/view/432/2624>
 30. MINSA/DIGESA. Norma Técnica de Salud: " Gestión y Manejo de Residuos Sólidos en Establecimientos de Salud y Servicios Médicos de

Apoyo a nivel Nacional ". Norma Tecnica De Salud N° N° 096-
MINSA/DIGESA-V01. 2010;1:63.

ANEXOS

Anexo 1. Instrumento de recolección de datos

Número de placas	GRUPOS EXPERIMENTALES			GRUPOS CONTROL	
	100%	75%	50%	Control Negativo (DMS)	Control positivo (Nistatina)
Placa N°01	16,15	14,51	13,63	5,74	26,31
Placa N°02	16,60	14,92	13,05	6,62	25,26
Placa N°03	15,50	14,97	13,10	6,08	25,46
Placa N°04	16,00	15,34	14,53	6,81	25,91
Placa N°05	16,60	14,58	13,88	5,83	25,56
Placa N°06	16,24	14,26	13,76	6,25	25,73
Placa N°07	16,11	14,89	13,68	5,75	26,11
Placa N°08	16,54	14,71	13,91	5,97	26,16
Placa N°09	16,98	14,70	13,81	6,27	25,04
Placa N°10	16,03	15,43	14,23	6,34	26,82

Anexo 2. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Poseerá actividad antifúngica el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro”	Demostrar la actividad antifúngica, del aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) presenta actividad antifúngica frente a <i>Candida albicans</i>
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Cuál será el solvente que presenta mejor solubilidad en el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)?	Identificar el solvente que presenta mejor solubilidad en el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	El aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) presentan mejor solubilidad en solventes apolares.
¿Cuáles serán los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) con actividad antifúngica?	Identificar los metabolitos secundarios presentes en el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) con actividad antifúngica.	El aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) presenta metabolitos secundarios
¿Poseerá actividad antifúngica el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro?	Determinar la actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) <i>Eucalyptus globulus</i> al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro.	El aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) al 50%, 75% y 100% frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro presenta actividad antifúngica
¿Poseerá actividad antifúngica el aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro, comparado con Nistatina 100mg/ml?	Comparar la actividad antifúngica del aceite esencial de las hojas de (eucalipto) <i>Eucalyptus globulus</i> con Nistatina 100mg/ml frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231, in vitro.	El aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) presenta similar actividad antifúngica con Nistatina 100mg/ml frente <i>Candida albicans</i> ATCC 1023, in vitro.

Anexo 3. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	N° DE ÍTEMS	VALOR
Aceite esencial de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto)	Sustancia oleosa extraída de las hojas de <i>Eucalyptus globulus</i> (eucalipto) y que contienen principios activos.	Extracción por destilación con arrastre de vapor.	Solubilidad	Agua/ Acetona/ Cloroformo / Etanol / Metanol / DMS	Nulo Escaso Regular Abundante	4	1 2 3 4
			Metabolitos secundarios	Flavonoides Alcaloides Taninos Terpenos Saponinas Aminoácidos	Razón	3	100 75 50
			Concentración	Porcentaje			
Actividad antifúngica frente <i>Candida albicans</i> .	Capacidad de evitar o disminuir el crecimiento de los hongos (<i>Candida albicans</i>)	Medida del tamaño del halo de inhibición	Halo de inhibición	Diámetro	Razón	4	≤ 8mm (-) 8mm-14mm (+) > 14 mm-20mm (++) > 20mm : (+++)

Anexo 4. Certificado de análisis de Candida albicans ATTC 10231





Bruker Daltonik MALDI Biotyper Classification Results Meaning of Score

Values	Range	Interpretation	Symbols	Color
	2.00 - 3.00	High-confidence identification	(+++)	green
	1.70 - 1.99	Low-confidence identification	(+)	yellow
	0.00 - 1.69	No Organism Identification Possible	(-)	red

Meaning of Consistency Categories (A - C)

Category	Interpretation
(A)	High consistency: The best match is a high-confidence identification. The second-best match is (1) a high-confidence identification in which the species is identical to the best match, (2) a low-confidence identification in which the species or genus is identical to the best match, or (3) a non-identification.
(B)	Low consistency: The requirements for high consistency are not met. The best match is a high- or low-confidence identification. The second-best match is (1) a high- or low-confidence identification in which the genus is identical to the best match or (2) a non-identification.
(C)	No consistency: The requirements for high or low consistency are not met.

Sample Name: Candida albicans
 Sample Description: 0443
 Sample ID: 443-1006
 Sample Creation Date/Time: 2019-03-06T14:55:06.305 ADS
 Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library, Listeria

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
A2 (+++) (A)	443-1006	Candida albicans	2.11

Comments:

n/a

Anexo 5. Carta de presentación de los Bachilleres



UNIVERSIDAD MARÍA AUXILIADORA

"Año del Fortalecimiento de la Soberanía Nacional"

San Juan de Lurigancho 16 de junio del 2022

CARTA N°112-2022/ EPFYB-UMA

Sr.
NORBIL ANIANO BAZÁN FERNÁNDEZ
Presente. –


De mi especial consideración:

Es grato dirigirme a usted para saludarlo en nombre propio y de la Universidad María Auxiliadora, a quien represento en mi calidad de Director de la Escuela de Farmacia y Bioquímica.

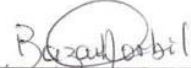
Sirva la presente para pedir su autorización a que los bachilleres: BAZAN SANTACRUZ, Elisa, DNI 47472461 y PEREZ LUJAN, Carmen Consuelo DNI 40833795 puedan recopilar datos para su proyecto de tesis titulado: **"ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL ACEITE ESENCIAL DE LAS HOJAS DE *Eucalyptus globulus* (EUCALIPTO) FRENTE A *Candida albicans* ATCC 10231, IN VITRO"**.

Sin otro particular, hago propicio la ocasión para expresarle los sentimientos de mi más alta consideración y estima.

Atentamente,


Dr. Jhonel Samaniego Joaquin
Director de la Escuela Profesional de
Farmacia y Bioquímica




Norbil Aniano Bazán Fernández
DNI: 27399941

Av. Canto Bello 431, San Juan de Lurigancho
Telf: 389 1212
www.umaperu.edu.pe

LGC/jlr

Anexo 6. Carta de aceptación del propietario del terreno de cultivo

Miracosta, 05 de Mayo del 2022

Señor
Dr. JHONNEL SAMANIEGO JOAQUÍN
Decano de la Universidad María Auxiliadora

Por medio de la presente, expreso mi saludo cordial, y a la vez informarle de la aceptación de las alumnas BAZÁN SANTACRUZ, Elisa y PEREZ LUJAN, Carmen Consuelo para que puedan realizar en mi huerta ubicada en el distrito de Miracosta, provincia de Chota, departamento Cajamarca, su recolección de las hojas de Eucalipto y así puedan desarrollar su proyecto de tesis.

Saludos Cordiales

ATENTAMENTE



NORBIL ANIANO BAZAN FERNANDEZ

DNI: 27399941

Anexo 7. Certificado botánico de la especie vegetal en estudio

Hamilton W. Beltrán S.
Consultor Botánico
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María
hamiltonbeltran@yahoo.com

CERTIFICACIÓN BOTÁNICA

El Biólogo colegiado, certifica que la planta conocida como "EUCALIPTO" proporcionada por los Bachilleres, ELISA BAZAN SANTACRUZ y CARMEN CONSUELO PEREZ LUJAN, Tesisistas de la Universidad María Auxiliadora, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Eucalyptus globulus* L. y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae
División: Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Subclase: Rosidae
Orden: Myrtales
Familia: Myrtaceae
Género: *Eucalyptus*
Especie: *Eucalyptus globulus* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de los interesados para los fines que estime conveniente.

Lima, 22 junio del 2022

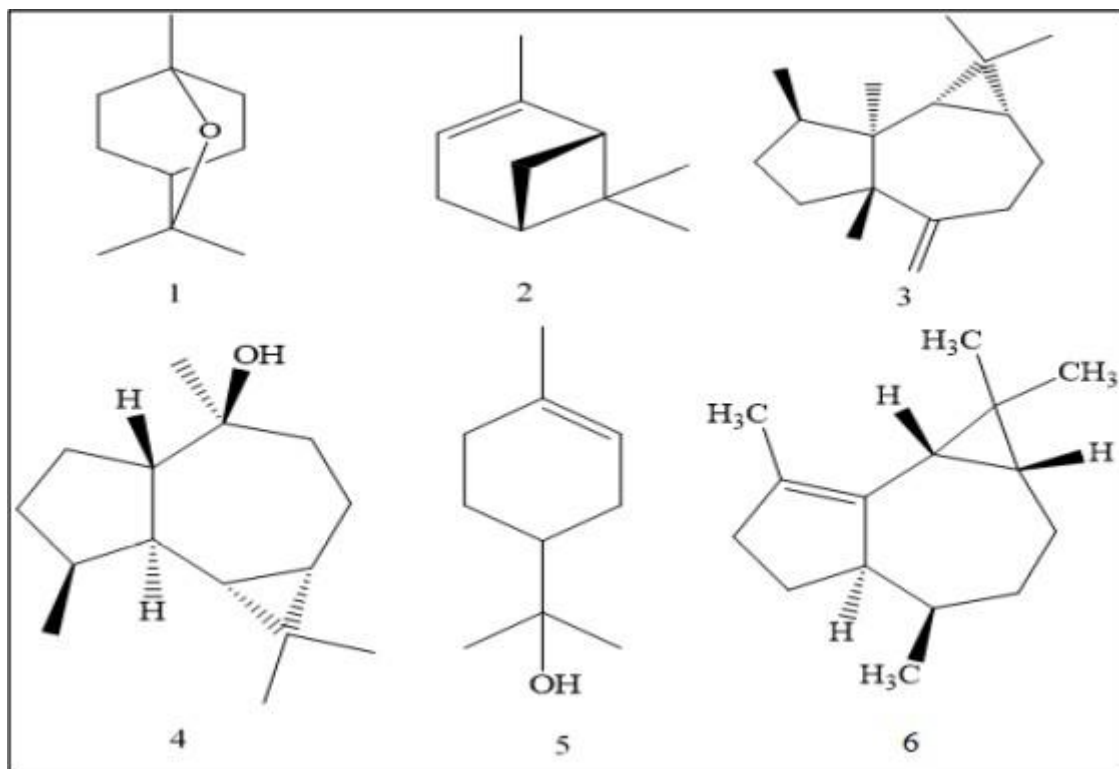

Bigo. Hamilton Beltrán
Hamilton Beltrán Santiago
Fotógrafo - Botánico
C.P. 5718

Anexo 8. Metabolitos secundarios encontrados en el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*

Metabolito	Porcentaje	Metabolito	Porcentaje
1,8-Cineol (Eucaliptol)	66,94	Mirceno	0,68
α -Pineno	11,70	Geraniol	0,52
Aromadendreno	4,06	β -Pineno	0,48
Globulol	3,49	4-Terpineol	0,47
(+)-Leden	2,72	Pulegone	0,33
α -Terpineol	2,60	α -Terpinoleno	0,25
α -Gurjuneno	1,35	1-Felandreno	0,21
Alo- aromadendreno	1,10	γ -Terpineno	0,19
Veridiflorol	1,15	α -Terpineno	0,09
α -Acetato de terpenenilo	0,90	Tujeno	0,05
Acetato de geranilo	0,70	Canfeno	0,02
Total			100

Elaborado por: Cabezas M.

Anexo 9. Principales estructuras de los metabolitos secundarios encontrados en el aceite esencial de *Eucalyptus globulus*



- 1) 1,8- Cineol (eucaliptol)
- 2) Alfa-pineno
- 3) Aromadendreno
- 4) Globulol
- 5) Alfa-Terpineol
- 6) Alfa-Gurjunene

Anexo 10. Fotografías que muestran la ejecución de la investigación

Figura 2. Obtención de la muestra vegetal de la zona de cultivo.



Figura 3. Aplicación de criterios de inclusión y exclusión en la muestra vegetal



Figura 4. Lavado de las hojas de eucalipto



Figura 5. Preparación del aceite esencial de las hojas de eucalipto





Figura 6. Prueba de solubilidad y estudio fitoquímico

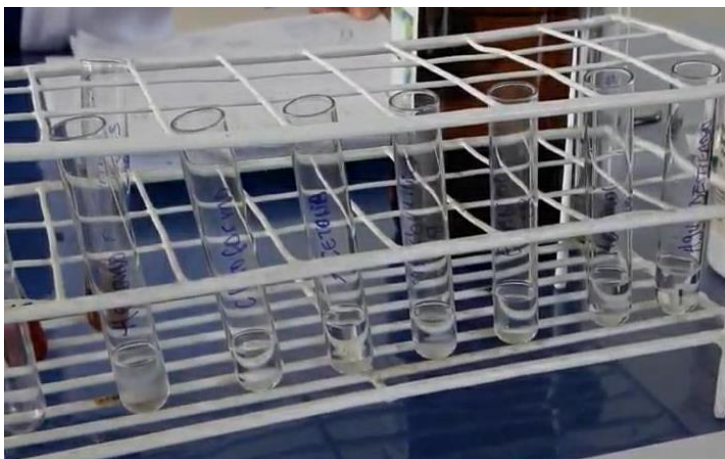


Figura 7. Dilución del aceite de eucalipto a las concentraciones 50%, 75% y 100%.



Figura 8. Activación de la cepa de *Candida albicans*



Figura 9. Preparación del cultivo microbiológico

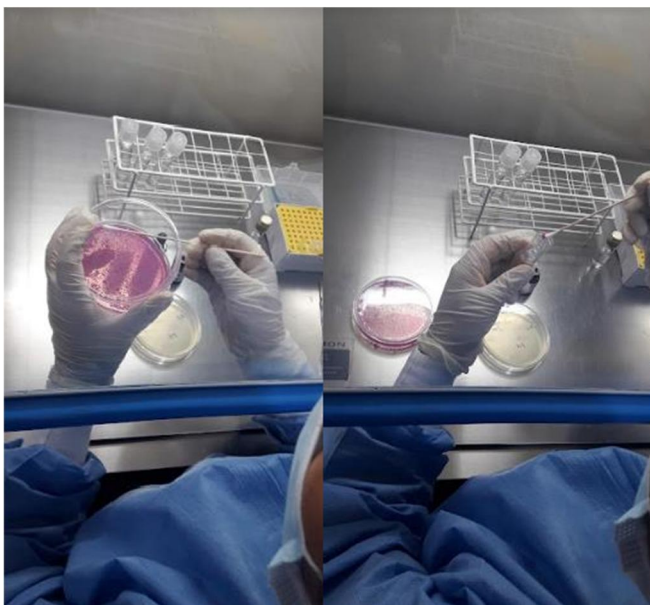




Figura 10. Sembrado del cultivo microbiológico



Figura 11. Preparación de pozos en agar

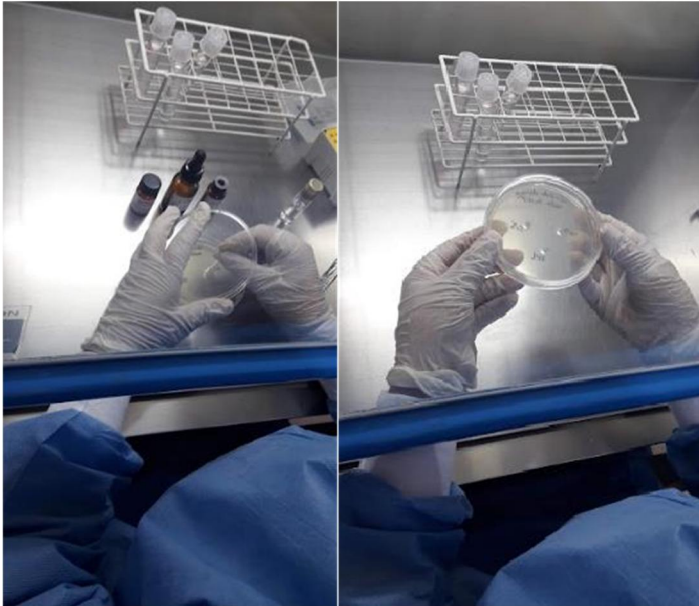


Figura. 12 Aplicación del aceite en placas con cepa

