



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

**“EFECTO ANTIMICÓTICO *in vitro* DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE *Citrus paradisi*
(POMELO) FRENTE *Candida albicans* ATCC 10231”**

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTOR

Bach. ESPINOZA JARA EDITH GELICA
<https://orcid.org/0009-0003-3251-8947>

Bach. CIEZA NUÑEZ DAINE
<https://orcid.org/0009-0000-6093-8082>

ASESOR:

Mg. TOVAR TICSE ROSMERY DIONICIA
<https://orcid.org/0000-0001-9520-5372>

LIMA – PERÚ

2023

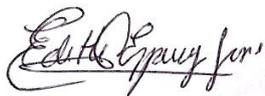
DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Espinoza Jara, Edith Gelica, con DNI 40013765 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TÍTULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título **“EFECTO ANTIMICÓTICO *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE *Citrus paradisi* (POMELO) FRENTE *Candida albicans* ATCC 10231”**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 16 % y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 26, de enero 2024.



(Nombre y Firma)

Firma del Autor: Espinoza Jara, Edith Gelica



(Nombre y Firma)

Firma del Asesor: Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, DAINE CIEZA NUÑEZ, con DNI 71965773 en mi condición de autora de la tesis presentada para optar el TITULO PROFESIONAL de Químico Farmacéutico de título **“EFECTO ANTIMICÓTICO *in vitro* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE *Citrus paradisi* (POMELO) FRENTE *Candida albicans* ATCC 10231”**, **AUTORIZO** a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para publicar de manera indefinida en el repositorio institucional, 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.

Indicar que dicho documento es **ORIGINAL** con un porcentaje de similitud 16 % y, que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

Conforme a lo indicado firmo el presente documento dando conformidad a lo expuesto.

Lima, 26, de enero 2024.



(Nombre y Firma)

Firma del Autor: Daine Cieza Nuñez



(Nombre y Firma)

Firma del Asesor: Tovar Ticse, Rosmery Dionicia

1. Apellidos y Nombres
2. DNI
3. Grado o título profesional
4. Título del trabajo de Investigación
5. Porcentaje de similitud

INFORME ORIGINALIDAD – TURNITIN

EFFECTO ANTIMICOTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE Citrus paradisi (POMELO) FRENTE Candida albicans ATCC 10231

INFORME DE ORIGINALIDAD

16%

INDICE DE SIMILITUD

17%

FUENTES DE INTERNET

5%

PUBLICACIONES

4%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

repositorio.uma.edu.pe

Fuente de Internet

16%

2

hdl.handle.net

Fuente de Internet

1%

Excluir citas

Activo

Excluir bibliografía

Activo

Excluir coincidencias < 1%

DEDICATORIA

Manifiesto mi sincero agradecimiento por la dirección que arroja luz en mi sendero en cada paso de mi vida diaria. Valorizo y reconozco la salvaguardia que he experimentado y las bendiciones de bienestar que han sido otorgadas a mis queridos padres. El respaldo inquebrantable que siempre encuentro en ellos es un tesoro invaluable que aprecio enormemente. Me considero realmente afortunada por contar con su constante amor y apoyo en mi vida.

Bach. Espinoza Jara, Edith Gelica

Mi fe en Dios ilumina mi camino en cada paso que doy, manifestando mi agradecimiento por su continua orientación. Asimismo, deseo expresar mi gratitud por cuidar y asegurar el bienestar de mis amados padres, quienes siempre están ahí para apoyarme sin condiciones en cualquier circunstancia. El cariño y el respaldo que me brindan son inestimables, y me siento afortunada de contar con su presencia en mi vida.

Bach. Cieza Nuñez, Daine

AGRADECIMIENTO

Queremos expresar nuestra más sincera gratitud a la Universidad María Auxiliadora por brindarnos la educación académica necesaria que ha contribuido a nuestro crecimiento profesional y al logro de nuestras metas previamente establecidas.

Asimismo, deseamos agradecer a nuestros padres, familiares y colegas por su apoyo constante a lo largo de todo el proceso de investigación.

Además, extendemos nuestro agradecimiento a nuestra tutora, la Magíster Tovar Ticse, Rosmery, por su dedicación incansable y paciencia en cada fase de este proyecto de investigación.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
II.1. Enfoque y diseño de la investigación	7
II.2. Población, muestra y muestreo.....	7
II.3. Variables de investigación	8
II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos.....	8
II.5. Plan metodológico para la recolección de datos.....	8
II.6. Procesamiento del análisis estadístico	11
II.7. Aspectos éticos.....	11
III. RESULTADOS.....	12
IV. DISCUSIÓN	17
IV.1. Discusión de resultados.....	17
IV.2. Conclusiones	20
IV.3. Recomendaciones	21
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22
ANEXOS	26
ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos.....	26
ANEXO B. Matriz de consistencia	29
ANEXO C. Operacionalización de las variables	30
ANEXO D. Certificado Taxonómico.....	31
ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio.....	32
ANEXO F. Certificado de Agar dextrosa sabouraud	33
ANEXO G. Certificado de análisis de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	35
ANEXO H. Evidencias fotográficas	38
ANEXO I. Porcentaje de rendimiento	48
ANEXO J. Constancia de recolección de la muestra	49

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Análisis de solubilidad	12
Tabla 2. Contratación de hipótesis general	12
Tabla 3. Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad fúngica <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	13
Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de <i>Citrus paradisi</i> (pomelo)	14
Tabla 5. Pruebas de ANOVA de los halos obtenidos frente <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	15
Tabla 6. Comparaciones múltiples por Tukey	15
Tabla 7. Subconjuntos frente <i>Candida albicans</i>	16
Tabla 8. Ensayo microbiológico.....	26
Tabla 9. Marcha fitoquímica del extracto etanólico	27
Tabla 10. Ensayo de Solubilidad	28

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Recolección de la muestra	38
Figura 2. Muestra de tipo Citrus paradisi (pomelo).....	39
Figura 3. Separado de cáscara	39
Figura 4. Lavado del fruto	39
Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra	40
Figura 6. Procedimiento de molienda de la muestra	40
Figura 7. Preparación del macerado del extracto etanólico	40
Figura 8. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico.....	41
Figura 9. Obtención de extracto seco.....	41
Figura 10. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad	42
Figura 11. Resultado de prueba de solubilidad	42
Figura 12. Adición de extracto a los tubos de ensayo	43
Figura 13. Resultado de la marcha fitoquímica	43
Figura 14. Pesando del Agar.....	44
Figura 15. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica	44
Figura 16. Agar Saboraud Dextrosa.....	44
Figura 17. Placas preparadas	45
Figura 18. Cepa biológica de tipo: <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	45
Figura 19. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland	45
Figura 20. Rotulado de placas.....	46
Figura 21. Sembrado de la cepa biológicas en las placas	46
Figura 22. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado	46
Figura 23. Preparación de discos.....	47
Figura 24. Incubación de placas.....	47
Figura 25. Lectura de resultados.....	47

RESUMEN

Objetivo: Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Materiales y métodos: cuantitativo, experimental; población: 20 Kg de *Citrus paradisi*; muestra de 5 kg de epicarpio de *Citrus paradisi*; por otro lado, se empleó 10 placas Petri inoculadas con *Candida albicans* ATCC 10231. Además, se empleó la marcha fitoquímica, difusión en agar en pozos, compuesta por conjuntos al 30%, 50% y 90% contra a Fluconazol.

Resultados: Las medias en concentraciones del 30%, 50% y 90% del extracto etanólico del epicarpio de pomelo frente *Candida albicans* fueron más bajos que los registrados por el Fluconazol. La prueba de ANOVA manifestó ($p < 0,05$) en comparación con el conjunto de control. Además, se identificó la presencia de antraquinonas, compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas, taninos, antocianinas y alcaloides.

Conclusión: El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) presentó efecto antimicótico al 50% y 90% frente *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras clave: Efecto antimicótico, *Citrus paradisi*, *Candida albicans*

ABSTRACT

Objective: Determine the in vitro antifungal effect of the ethanolic extract of the epicarp of *Citrus paradisi* (Grapefruit) against strains of *Candida albicans* ATCC 10231.

Materials and methods: quantitative, experimental; population: 20 Kg of *Citrus paradisi*; 5 kg sample of *Citrus paradisi* epicarp; On the other hand, 10 Petri plates inoculated with *Candida albicans* ATCC 10231 were used. In addition, the phytochemical march was used, diffusion in agar in wells, consisting of groups at 30%, 50% and 90% against Fluconazole.

Results: The average diameters at concentrations of 30%, 50% and 90% of the ethanolic extract of grapefruit epicarp against *Candida albicans* were lower than those recorded by Fluconazole. The ANOVA test showed ($p < 0.05$) compared to the control set. Additionally, the presence of anthraquinones, phenolic compounds, α , β -unsaturated lactones, tannins, anthocyanins, reducing sugars, flavonoids and alkaloids was identified.

Conclusion: The ethanolic extract of the epicarp of *Citrus paradisi* (grapefruit) presented 50% and 90% antifungal effect against *Candida albicans* ATCC 10231.

Keywords: Antifungal effect, *Citrus paradisi*, *Candida albicans*

I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones por *Candida albicans*, han mostrado un alarmante aumento de resistencia a los tratamientos antifúngicos, esto ha llevado a un incremento de procesos fúngicos invasivos en pacientes inmunocomprometidos, complicando los esfuerzos médicos por controlar y erradicar la propagación de la candidiasis, lo que representa un serio desafío para la salud pública a nivel global¹.

A nivel mundial, la resistencia de *Candida albicans* a los tratamientos antifúngicos ha alcanzado proporciones alarmantes, según reportes de la Organización Mundial de la Salud (OMS). Los estudios de la OMS revelan que aproximadamente el 60% de las infecciones por *Candida albicans* no responden a los tratamientos convencionales, lo que ha llevado a un aumento significativo².

En Oceanía, los informes de la (OMS) señalan que la resistencia de *Candida albicans* a los tratamientos antifúngicos ha experimentado un aumento progresivo en países como Australia y Nueva Zelanda, donde se ha registrado una tasa de resistencia cercana al 40%³. En Asia, la resistencia de *Candida albicans* a los tratamientos antifúngicos ha aumentado significativamente, según datos recopilados por la (OMS). En países como India, China y Japón, se ha observado que alrededor del 50% de las infecciones por *Candida albicans* presentan resistencia a los medicamentos antifúngicos utilizados con mayor frecuencia⁴. En África, los estudios realizados por la (OMS) indican que la resistencia de *Candida albicans* a los antifúngicos ha alcanzado niveles preocupantes, con tasas de resistencia que oscilan entre el 30% y el 70% en países como Sudáfrica, Nigeria y Etiopía⁵. En Europa, la resistencia de *Candida albicans* se ha vuelto una preocupación creciente, de acuerdo con informes de la Agencia Europea de Medicamentos (EMA). Se estima que entre el 40% y el 60% de las infecciones por *Candida albicans* en países como España, Italia y Grecia muestran resistencia a los tratamientos antifúngicos disponibles⁶. En América, la resistencia de *Candida albicans* a los tratamientos antifúngicos ha alcanzado cifras preocupantes según investigaciones de la Organización Panamericana de la Salud (OPS). Se estima que alrededor del 50% de las infecciones por este hongo en países como Estados Unidos, Brasil y México no responden adecuadamente a los tratamientos convencionales^{7,8}.

En Perú, un estudio realizado por el Ministerio de Salud reveló que aproximadamente el 45% de las infecciones micóticas presentan resistencia a los medicamentos antifúngicos más comúnmente utilizados⁹. Además, la onicomicosis pedis constituye un asunto importante en el ámbito de la salud pública. Esta enfermedad afecta principalmente a los hombres, representando el 50% de los casos, y compromete el lecho ungueal. Los agentes etiológicos con mayor prevalencia en esta condición son *C. albicans*, responsables de un 40.4% de los casos¹⁰. Por otra parte, existen investigaciones que señalan que la candidiasis vulvovaginitis (CVV) será una realidad para las mujeres en la región. Se estima que el 75% de ellas experimentarán esta infección al menos una vez en su vida. Además, cerca del 50% tendrán varios episodios, y entre un 4% y un 10% sufrirán de CVV de manera recurrente¹¹.

La *Candida albicans*, un hongo oportunista, encuentra terreno propicio en el Perú debido a diversas causas. El uso indiscriminado de antibióticos altera la flora normal del cuerpo, permitiendo el crecimiento excesivo del hongo. La inmunosupresión, presente en pacientes con VIH/SIDA o sometidos a tratamientos de quimioterapia, aumenta su vulnerabilidad a infecciones micóticas. La diabetes no controlada, con altos niveles de glucosa, favorece su proliferación, especialmente en mucosas y pliegues cutáneos. Además, los ambientes cálidos y húmedos comunes en algunas regiones del país proporcionan condiciones idóneas para su propagación¹.

La presencia de *Candida albicans* en el Perú acarrea diversas consecuencias en la salud pública. Las infecciones cutáneas, como dermatitis afectan a individuos con sobrepeso. Las infecciones genitales, como la candidiasis vaginal o balanitis, son comunes en hombres y mujeres. La candidiasis bucal afecta principalmente a bebés, personas con prótesis dental y aquellos con sistemas inmunitarios debilitados. En casos graves, la candidiasis sistémica puede diseminarse por el torrente sanguíneo, afectando órganos internos y representando un riesgo de vida. Estas consecuencias ponen de manifiesto la importancia de una atención médica oportuna y el uso adecuado de medicamentos antifúngicos para controlar la propagación de la *Candida albicans* en el país¹.

Así, encontrar sustancias antimicóticas eficaces con métodos de acción particulares es una meta significativa para los científicos en el campo de la

alimentación. *Citrus paradisi* (pomelo) ha generado interés por sus aplicaciones contra *Candida albicans*, sobre todo en cuanto a las características de su epicarpio. Por esta razón, se sugiere investigar de manera completa el potencial fitoterapéutico del epicarpio del *Citrus Paradisi* (pomelo) como una opción que no fomente la resistencia a los hongos.

Para ello se formula la siguiente pregunta:

¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231?

Asimismo, genera las, siguientes subpreguntas:

- ¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antimicótico in vitro pose el extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo)?
- ¿Tiene efecto antimicótico in vitro el extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231?
- ¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) con fluconazol frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231?

Candida albicans es una especie de hongo unicelular que pertenece al grupo de las levaduras. Es el agente causal más común de las infecciones por candidiasis en seres humanos. Esta levadura es parte de la flora normal de la piel, la boca, los intestinos y la vagina en la mayoría de las personas, sin causar problemas. Sin embargo, bajo ciertas condiciones, puede multiplicarse rápidamente y causar infecciones. Las infecciones pueden variar desde condiciones leves, como la candidiasis oral, hasta infecciones sistémicas potencialmente mortales. La patogenicidad de este organismo se relaciona con su capacidad para cambiar de forma morfológica, desde una forma de levadura hasta una forma filamentosa¹².

Citrus paradisi, o pomelo, es un cítrico que presenta un tallo leñoso y flores blancas. Su composición fitoquímica incluye compuestos como flavonoides y terpenos. Particularmente, el epicarpio (parte externa del fruto) ha sido estudiado por su

propiedad antimicótica, ya que contiene sustancias como el limoneno y la naringina que inhiben el crecimiento de hongos patógenos. Esta actividad antimicótica podría ser útil en el desarrollo de nuevos tratamientos contra infecciones fúngicas y representa una área importante de investigación en la interacción planta-patógeno¹³.

Trejo I. (2021) su objetivo fue evaluar la acción antimicótica de extractos vegetales *Elettaria cardamomum* y *Citrus paradisi* contra *Cándida albicans* ATCC 90029. Para ello emplearon la técnica de maceración en frío. Obteniendo que el extracto de 1.64g. de *Citrus paradisi*, respondió de manera positiva a las pruebas que identifican a esteroides, triterpenos, flavonoides, quinonas, taninos, carbohidratos, alcaloides¹⁴.

Martínez D, et al. (2021) su objetivo principal fue analizar la acción antifúngica del Pomelo y *C. nocturnum* contra *Geotrichum spp* y *Aspergillus niger*. Para ello emplearon el método de Agar en discos. Obteniendo que no existió acción antifúngica el extracto de *Citrus x paradisi* (Pomelo)¹⁵.

Liu Y, et al. (2021) su objetivo fue evaluar la acción antifúngica en extractos de cáscara de cítricos preparados con solventes de calidad alimentaria (agua caliente o etanol). Obteniendo que los extractos etanólicos de cáscara de mandarina (*Citrus reticulata*) inhibieron el crecimiento micelial de *A. flavus* (39,60%) con mayor eficacia que los de naranja (32,31%) y limón (13,51%)¹⁶.

Soledad S. (2018) su objetivo principal fue analizar la acción antifúngica del extracto etanólico del pomelo sobre *Candida albicans*. Para ello emplearon el método de agar en discos. Obteniendo que al 75% el extracto presentó 16.75 mm y al 100% alcanzo 20 mm frente *Candida albicans* ATCC 10231¹⁷.

Vílchez R. y Alayo J. (2022) su objetivo fue analizar la acción fungicida in vitro del aceite esencial de *Citrus paradisi* Macfad (toronja) frente *Aspergillus niger*. Emplearon el método de agar en discos. Obteniendo que la concentración al 100% presentó acción antifúngica, así como una diferencia estadística con $p < 0,05$ ¹⁸.

Sesa I. y Torres L. (2021) su objetivo fue evaluar la acción fungicida del aceite esencial de la mandarina y naranja tangelo sobre *Candida albicans* in vitro. Para

ello emplearon el método de Kirby Bauer. Obteniendo que *Citrus sinensis* al 100% fue (14.5mm + 0.34) y al 50% (8.39mm + 0.31)¹⁹.

Se justifica teóricamente debido a que amplió el conocimiento etnofarmacológico del epicarpio de *Citrus Paradisi* (pomelo), enfatizando los beneficios terapéuticos del epicarpio debido a la poca de información existente sobre sus propiedades farmacológicas. Así mismo pudo contribuir a la medicina natural y ser una fuente importante de nuevos medicamentos para tratar infecciones fúngicas, lo que permitiría a los pacientes tener más opciones de tratamiento. Dado que la planta es de fácil acceso para la población, podría utilizarse como una alternativa terapéutica para tratar infecciones fúngicas.

La justificación práctica residió en incentivar a otros estudiantes de la especialidad de farmacia y bioquímica para explorar este elemento natural y descubrir nuevas moléculas con capacidad antimicótica que permitan sintetizar nuevos medicamentos antibióticos.

La justificación metodológica evidenció que las técnicas utilizadas en el proyecto fueron rigurosamente validadas y empleadas para demostrar la fiabilidad y seguridad de los resultados obtenidos.

El objetivo general:

Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

Los objetivos secundarios:

- Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) responsables del efecto antimicótico in vitro
- Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

- Comparar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) con fluconazol frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

La hipótesis general del estudio será la siguiente:

El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) presenta efecto antimicótico in vitro frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

- El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) posee metabolitos secundarios responsables del efecto antimicótico in vitro.
- El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) tiene efecto antimicótico in vitro a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.
- El efecto antimicótico del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) es significativamente mayor comparado con fluconazol frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

II.1. Enfoque y diseño de la investigación

Enfoque: cuantitativo, porque implica realizar mediciones para identificar patrones, formular hipótesis nuevas y generar teorías en relación al tema de investigación²⁰.

Diseño: Experimental, ya que se manipuló la variable independiente para observar su efecto en la variable dependiente²¹.

Nivel: Explicativo, debido a que el objetivo de este estudio fue examinar y comprender la relación causal entre las variables y eventos analizados²².

Corte: Transversal, porque la recolección de datos se realizó en un único momento²³.

II.2. Población, muestra y muestreo

Población vegetal de 20 kilogramos en una hectárea de cultivo de "*Citrus paradisi*" (Pomelo), del departamento de Lima, provincia de Huaral y distrito de Huaral.

La población biológica fue cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Muestra vegetal fue 5 kg de epicarpio de "*Citrus paradisi*".

Muestra microbiológica fue 10 placas petri con *Candida albicans* ATCC 10231.

El proceso de muestreo de la muestra fue de forma no probabilística por intención debido a que se consideraron criterios de inclusión y exclusión²⁴.

Criterios de inclusión:

- Cultivos en plena madurez sin manifestaciones de degradación, patologías o infestaciones.
- Pomelo que pertenece al fundo Alan Smith en Huaral

Criterios de exclusión:

- Semillas de *Citrus paradisi*.
- Mesocarpio de *Citrus paradisi*.

II.3. Variables de investigación

Variable Independiente: Extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo)

Definición conceptual: Extracto obtenida de la maceración etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo)¹³.

Definición operacional: Técnica de maceración del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo).

Variable dependiente: Efecto antimicótico in vitro frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

Definición conceptual: El efecto antimicótico es la propiedad biológica que permite inhibir el crecimiento de la *Candida albicans*¹².

Definición operacional: Se evaluó mediante la medición del halo de inhibición en las cepas fúngicas de *Candida albicans* ATCC 10231.

II.4. Técnicas e instrumentos para la recolección de datos

Fue la observación. Además, se realizó la marcha fitoquímica y en base al análisis microbiológico se usó la técnica de método por difusión en agar - Kirby-Bauer²⁵.

El instrumento fue la ficha de observación, la cual se utilizó con el propósito de recolectar la información referente a los análisis respectivos²⁵.

II.5. Plan metodológico para la recolección de datos

II.5.1. Recolección y reconocimiento de la muestra vegetal:

Tuvo lugar en Huaral luego, se conservó en un envase de poliestireno expandido en el transcurso de su traslado a Lima para el análisis correspondiente.

II.5.2. Preparación de la muestra vegetal

a La identificación de la especie fue llevada a cabo por un biólogo taxónomo especialista el cual proporcionó un certificado confirmatorio de la especie *Citrus Paradisi* (pomelo).

II.5.3. Preparación del extracto

Para llevar a cabo la extracción del epicarpio de "*Citrus Paradisi* (pomelo)", se precisó de un envase de color ámbar con capacidad de 1 litro y alcohol etílico al 96 %, que fungió como solvente para extraer los compuestos primarios y secundarios. El método a aplicar fue la maceración en movimiento durante un lapso de 5 días. Al finalizar la maceración, se procedió a filtrar el extracto y se sometió a un proceso de evaporación en una estufa a una temperatura de 40°C a lo largo de 48 horas, con el objetivo de adquirir el extracto en su estado crudo o deshidratado para las próximas evaluaciones.

II.5.4. Porcentaje de rendimiento

Fue utilizada la fórmula con el fin de determinar el porcentaje de rendimiento²⁶

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Donde:

- %E = Porcentaje de rendimiento
- Pf = Peso final (Extracto seco obtenido)
- Pi = Peso inicial (Muestra molida)

II.5.5. Prueba de solubilidad

Con el propósito de realizar este experimento, se requirió 0,5 gramos del extracto en forma seca y 1 mililitro de los próximos solventes orgánicos, alcohólicos y polares como el agua²⁷.

II.5.6. Marcha fitoquímica del extracto

Se utilizó la técnica de Olga Lock para realizar un tamizaje fitoquímico preliminar. Se empleó diferentes reactivos en 14 tubos de ensayo, cada uno con 1 mL del extracto fluido. Los reactivos incluyen Fehling A y B, Benedict, NaOH 10%, Cloruro férrico, Gelatina-sal, Gelatina, Wagner, Dragendorff, Shinoda, Baljet, Borntrager, Liebermann-Burchard y Mayer. Además, se utilizó los índices Afro simétrico y de espuma para la detección de saponinas²⁸

II.5.7. Análisis Antimicótico

Activación de las cepas *Candida albicans* ATCC 10231: Este procedimiento fue realizado empleando Kwik-stik, la técnica implicó ejercer presión sobre la ampolla localizada en la parte alta del recipiente y posibilitar que el fluido humectante se desplace en dirección a la porción más baja. Tras completar este procedimiento, se obtuvo una muestra de la solución resultante y se transfirió al agar correspondiente²⁹.

Preparación de inóculo: Se mezcló al instante la variante y se ajustó su turbidez utilizando la escala McFarland 0,5, correspondiente a una concentración de (1,5 x 10⁸ UFC/mL)

Procedimiento: Se midió 13 gramos de caldo deshidratado de papa con dextrosa y se disolvió posteriormente en 200 mililitros de agua destilada. La solución obtenida se colocó en un frasco de vidrio transparente y se sometió a esterilización en una autoclave a 121°C durante un lapso de 15 minutos, tal como lo recomienda el fabricante. Una vez que el caldo estuvo esterilizado, se transfirió al interior de un tubo de ensayo una vez que se haya enfriado adecuadamente³⁰.

Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10232 fueron rehidratadas y cultivadas en agar Sabouraud. Después de 72 horas de incubación, se tomó una colonia utilizando un asa de siembra calibrada de 10 microlitros, la cual se depositó en el caldo de papa dextrosa previamente preparado. La mezcla se homogeneizó utilizando el mismo instrumento. La suspensión de la cepa en el caldo se mantuvo en incubación a 30°C durante 48 horas. Transcurrido este tiempo, el caldo mostró una turbidez evidente, indicando el crecimiento del hongo.

Para evaluar la turbidez, se ajustó visualmente al estándar previamente preparado (0.5 McFarland) utilizando una solución salina (NaCl al 0.9%). Para hacer la comparación, se observó los tubos en contraste con un fondo blanco con líneas negras para maximizar la claridad. El objetivo es asegurar que la suspensión preparada contenga aproximadamente de 1 a 2 x 10⁸ unidades formadoras de colonias por mililitro de la cepa *Candida albicans*.

Preparación de los pozos: fueron elaborados utilizando un sacabocado de acero inoxidable con un diámetro de 6 mm. se añadieron con las sustancias siguientes para llevar a cabo la técnica de Difusión en agar.

- *Citrus Paradisi* (pomelo) al 30 %
- *Citrus Paradisi* (pomelo) al 50 %
- *Citrus Paradisi* (pomelo) al 90 %
- Discos de fluconazol
- Discos embebidos con etanol

Después se llevó a cabo la incubación de todas las placas, en el horno a 37°C durante un período 24 a 48 horas. Al finalizar, se analizaron los resultados utilizando la "Escala de Duraffourd"

II.6. Procesamiento del análisis estadístico

Se llevó a cabo la recolección de información utilizando una ficha de observación que fue integrada posteriormente en la plataforma de documentos en SPSS versión 27. Se empleó métodos estadísticos para analizar los datos, incluyendo frecuencias absolutas, frecuencias relativas y medidas de tendencia central. Además, se utilizó herramientas estadísticas inferenciales como ANOVA y el test de Tukey para realizar un análisis más profundo de los resultados obtenidos³¹.

II.7. Aspectos éticos

Durante el transcurso de la investigación, se realizó la manipulación correcta de la cepa fúngica y los equipos de laboratorio requeridos. Asimismo, se implementaron acciones para prevenir la contaminación ambiental, asegurando la apropiada gestión y eliminación de los productos biológicos empleados³².

III. RESULTADOS

III.1. Prueba de solubilidad

Tabla 1. Análisis de solubilidad

TUBO	SOLVENTE	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	-
N° 2	Diclorometano	-
N° 3	Cloroformo	-
N° 4	Butanol	-
N° 5	Etanol 96	+++
N° 6	Etanol 70	++
N° 7	Metanol	++
N° 8	Agua destilada	+

La mayor solubilidad (+++) se identificó en el solvente etanol 96; le sigue el etanol 70 y metanol con mediana solubilidad (++); y poca solubilidad (+) en agua destilada.

III.2. Contratación de hipótesis general

Hipótesis estadística

H0: El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) no presenta efecto antimicótico in vitro frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Tabla 2. Contratación de hipótesis general

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	Etanol	30%	50%	90%	Fluconazol
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	6	7.64	8.14	9.33	24.48
	6	7.60	8.19	9.35	24.45
	6	7.62	8.12	9.37	24.50
	6	7.68	8.10	9.34	24.47
	6	7.64	8.18	9.36	24.48
	6	7.59	8.11	9.35	24.45
	6	7.60	8.11	9.34	24.46
	6	7.63	8.19	9.33	24.43
	6	7.62	8.16	9.35	24.49
	6	7.65	8.14	9.36	24.46
Media	6	7.62	8.14	9.35	24.47

Se realizaron evaluaciones estadísticas para analizar la hipótesis propuesta. Los resultados indicaron que los valores obtenidos en cada grupo de estudio se encontraban dentro de los límites de confianza establecidos. De igual manera en la tabla 2 y 3 se evidencia los resultados de los halos de inhibición del análisis microbiológico.

Se pudo observar que para *Candida albicans* ATCC 10231, el etanol no presentó halos de inhibición con una media de 6.00 y una desviación estándar de 0.00000, que corresponde al diámetro del pozo de 6.00 mm.

Tabla 3. Análisis descriptivos estadísticos de los resultados obtenidos en la prueba microbiológica de la variedad fúngica *Candida albicans* ATCC 10231

95% de intervalo de confianza para la media							
		N	Media	Desviación estándar	Error estándar	Límite inferior	Límite superior
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Etanol	10	6,0000	0,00000	0,00000	6,0000	6,0000
	Ext. 30%	10	7,6270	0,02710	0,00857	7,6076	7,6464
	Ext. 50%	10	8,1440	0,03438	0,01087	8,1194	8,1686
	Ext. 90%	10	9,3480	0,01317	0,00416	9,3386	9,3574
	Fluconazol	10	24,4670	0,02111	0,00667	24,4519	24,4821

Al emplear la escala de Duraffourd, se evidenció que la concentración del extracto etanólico del epicarpio de pomelo al 30% mostró nula sensibilidad con una media de 7,6270 mm. Por otro lado, las concentraciones del 50% y 90% mostraron baja sensibilidad antifúngica frente *Candida albicans* ATCC 10231 con una media de 8,1440 y 9,3480 mm, respectivamente. Así mismo, la cepa se mostró sumamente sensible frente al Fluconazol con una media de 24,4670 mm.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula H0.

III.3. Contrastación de hipótesis específicas

a) Hipótesis Específica N° 01

H0: El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) no posee metabolitos secundarios responsables del efecto antimicótico in vitro.

Tabla 4. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *Citrus paradisi* (pomelo)

TUBO	ENSAYOS	METABOLITO	RESULTADO
N° 1	Borntrager	Antraquinonas	+++
N° 2	Cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+++
N° 3	Liebermann-Burchard	Terpenos y esteroides	+
N° 4	Dragendorff	Alcaloides	++
N° 5	Mayer	Alcaloides	+
N° 6	Wagner	Alcaloides	+
N° 7	Baljet	Lactonas α , β -insaturadas	+++
N° 8	Gelatina	Taninos	+++
N° 9	Gelatina-sal	Taninos	+
N° 10	NaOH 10%	Antocianinas	+++
N° 11	Benedict	Azúcares reductores	++
N° 12	Fehling A y B	Azúcares reductores	+++
N° 13	Espuma	Saponinas	-
N° 14	Shinoda	Flavonoides	+++

Se llevó a cabo el análisis fitoquímico siguiendo el protocolo establecido por Olga Lock para comprobar la hipótesis. Mediante este método, se investigó la presencia de diversos compuestos secundarios con propiedades antimicóticas en el extracto etanólico obtenido del epicarpio de pomelo. Se observó la presencia de antraquinonas, compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas, taninos, antocianinas, azúcares reductores y flavonoides (+++). Además se detectó Alcaloides (++) .

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula H0.

b) Hipótesis Específica N° 02

H0: El extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) no tiene efecto antimicótico in vitro a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Tabla 5. Pruebas de ANOVA frente *Candida albicans* ATCC 10231

		ANOVA				
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Entre grupos	2285,544	4	571,386	1126747,047	0,000
	Dentro de grupos	0,023	45	0,001		
	Total	2285,567	49			

Se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) para determinar la presencia de diferencias entre los tratamientos mediante la comparación de sus promedios. Se identificó un resultado con un valor de $p < 0.05$, el cual evidencia que hay diferencias entre los tratamientos aplicados frente *Candida albicans* ATCC 10231. Con el propósito de identificar las diferencias significativas entre los distintos grupos, se llevó a cabo un análisis POST HOC utilizando el procedimiento de Tukey.

Tabla 6. Comparaciones múltiples por Tukey

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Desv. Error	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Fluconazol	ETANOL	18,46700*	0,01007	0,000	18,4384	18,4956
	30 %	16,84000*	0,01007	0,000	16,8114	16,8686
	50 %	16,32300*	0,01007	0,000	16,2944	16,3516
	90 %	15,11900*	0,01007	0,000	15,0904	15,1476
ETANOL	Fluconazol	-18,46700*	0,01007	0,000	-18,4956	-18,4384
	30 %	-1,62700*	0,01007	0,000	-1,6556	-1,5984
	50 %	-2,14400*	0,01007	0,000	-2,1726	-2,1154
	90 %	-3,34800*	0,01007	0,000	-3,3766	-3,3194

Se pudo observar que $p < 0.05$ entre el fluconazol y los grupos experimentales al 30%, 50% y 90%, el cual manifiesta que el fluconazol muestra un efecto inhibitorio significativamente mayor que los experimentales en todas las concentraciones frente *Candida albicans* ATCC 10231.

Además, se observa que $p < 0.05$ entre etanol y los grupos experimentales, el cual evidencia que existen diferencias estadísticamente significativas a favor de los experimentales.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula H_0 .

c) Hipótesis Específica N° 03

H_0 : El efecto antimicótico del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (Pomelo) no es significativamente mayor comparado con fluconazol frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

Tabla 7. Subconjuntos frente *Candida albicans*

HSD Tukey ^a						
Grupo	N	Subconjunto para alfa = 0.05				
		1	2	3	4	5
Etanol	10	6,0000				
30 %	10		7,6270			
50 %	10			8,1440		
90 %	10				9,3480	
Fluconazol	10					24,4670
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se puede apreciar que, para *Candida albicans* ATCC 10231, las medias de los diámetros de inhibición varían en función de las concentraciones del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) son menores en relación con los logrados por el fluconazol. Esto manifiesta que el agente antimicótico utilizado como referencia positiva presenta una media de inhibición mayor (24,4670 mm) que los grupos de experimentación.

Decisión: Por consiguiente, no se rechaza la hipótesis nula (H_0).

IV. DISCUSIÓN

IV.1. Discusión de resultados

La resistencia a los tratamientos observada en *Candida albicans* representa un desafío de alcance global en el ámbito de la microbiología y la salud pública. Este patógeno fúngico ha adquirido la capacidad de resistir terapias convencionales, como los antifúngicos. Dicho fenómeno se encuentra influenciado por diversos factores, tales como la exposición prolongada a estos tratamientos y la presión selectiva generada por su uso indiscriminado. Esta problemática complica la gestión de infecciones originadas por *Candida albicans*, presentando un obstáculo significativo en la lucha global contra las enfermedades infecciosas.

Siguiendo el objetivo general, se observó que el extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) presentó efecto antimicótico en concentraciones de 50% y 90% frente *Candida albicans* ATCC 10231 con halos de (8,1440 mm y 9,3480 mm). Resultados semejantes con el estudio de **Soledad S. (2018)**, quien al evaluar la acción antifúngica del extracto etanólico del pomelo, obtuvo que en concentraciones del 75% y 100%, estos presentaron halos de (16.75 y 20 mm), inhibiendo el crecimiento de *Candida albicans*¹⁷. La similitud en los resultados se debe al uso del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo). Ambos estudios encontraron efectos antimicóticos comparables en *Candida albicans*, explicando la igualdad. Así mismo guarda relación con la investigación de **Sesa I. y Torres L. (2021)**, quienes al analizar el efecto fungicida de *Citrus reticulata*, obtuvieron que en concentraciones del 50% y 100%, evidenciaron acción antifúngica sobre *Candida albicans*, con halos de (8.39mm + 0.31) y (14.5mm + 0.34) y respectivamente¹⁹. La similitud en los efectos antimicóticos entre *Citrus paradisi* de Huaral y *Citrus reticulata* de Huancayo se debe a las diferencias geográficas y ambientales entre ambas regiones. Estos factores locales influyen en la composición química de los extractos, lo que explica la convergencia en la actividad antifúngica observada contra *Candida albicans*.

Siguiendo el objetivo específico 1, se realizó la marcha fitoquímica, revelando la presencia de compuestos fenólicos, antraquinonas, lactonas α , β -insaturadas, taninos, antocianinas, azúcares reductores, flavonoides y alcaloides El mismo que

coincide con el estudio de **Trejo I. (2021)**, quienes al evaluar el tamizaje fitoquímico de *Citrus paradisi* identificaron metabolitos secundarios los cuales fueron: esteroides, triterpenos, flavonoides, quinonas, taninos, carbohidratos, alcaloides¹⁴. La similitud en los metabolitos entre el pomelo y la mandarina se debe a la igualdad de ambas frutas al género Citrus. Aunque son especies diferentes, ellas comparten una base química común en términos de fitoquímicos presentes en las plantas de este género, lo que puede explicar la convergencia en los compuestos fitoquímicos identificados.

Siguiendo el objetivo específico 2, se identificó que el extracto etanólico de *Citrus paradisi* (pomelo), evidenció efecto antimicótico en las concentraciones del 50% y 90% frente *Candida albicans* ATCC 10231. Guardando similitud con **Liu Y, et al. (2021)** los que al analizar la acción antifúngica en extractos etanólicos de cáscara de cítricos, obtuvo que en concentraciones de 300 a 400 mg ml⁻¹ con *Citrus reticulata*, inhibió el crecimiento de *A. flavus*, siendo este un (39,60%) mayor que los presentados por *Citrus sinensis* (32,31%) y *Citrus limon* (13,51%)¹⁶. La similitud en los efectos antimicóticos entre el extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) y el extracto de *Citrus reticulata* se atribuye a la elección de concentraciones específicas que demostraron actividad antifúngica, sugiriendo la capacidad de ciertas concentraciones de extractos de cáscaras de cítricos para inhibir microorganismos patógenos. Por otra parte, difiere con **Martínez D, et al. (2021)**, los que al evaluar la acción antifúngica del extracto alcohólico del pomelo frente *Geotrichum spp* y *Aspergillus niger*, obtuvieron que en concentraciones de 250-750 mg/mL y 100-700 mg/mL, no presentó actividad antifúngica evidenciando nula inhibición en los halos evaluados¹⁵. La discrepancia entre ambas investigaciones puede explicarse por disparidades en las cantidades de extractos y las especies de hongos evaluadas, así como en las condiciones experimentales. Estos factores contribuyen a resultados antagónicos en la actividad antimicótica.

Siguiendo el objetivo específico 3, se manifestó que el promedio de los halos en concentraciones de 30%, 50% y 90% del extracto etanólico de *Citrus paradisi* (pomelo) frente *Candida albicans* ATCC 10231, fueron menores en relación a los logrados por el Fluconazol. El cual exhibió un halo de (24,4670 mm). El mismo que guarda relación con **Soledad S. (2018)**, al examinar la acción antimicótica del pomelo, obtuvo que en concentraciones del 75% y 100%, estos presentaron halos

de (16.75 y 20 mm), inhibiendo el crecimiento de *Candida albicans*, sin embargo no fueron superiores al efecto inhibitor de clotrimazol el cual evidenció un halo de 20.25 mm¹⁷. La superioridad del control positivo (fluconazol y clotrimazol) en ambas investigaciones, en comparación con los extractos de pomelo, puede deberse a la eficacia probada de los medicamentos antifúngicos estándar. Los extractos naturales pueden no ser tan potentes como los fármacos diseñados específicamente para tratar infecciones por hongos, lo que explicaría por qué los extractos no superaron el efecto inhibitor de los controles positivos en ambas investigaciones.

El efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) puede atribuirse a una combinación de compuestos bioactivos presentes en el extracto. El pomelo es conocido por ser una fuente rica en fitoquímicos, incluyendo flavonoides, terpenoides y polifenoles, que poseen propiedades antimicrobianas. Estos componentes bioactivos interfieren con la membrana celular de *Candida albicans*, afectar la integridad de la pared celular y modular diversas vías metabólicas esenciales para el crecimiento del hongo. Además, el extracto etanólico podría influir en la actividad enzimática crucial para la supervivencia de *Candida albicans*. La presencia de agentes antimicóticos en el epicarpio de *Citrus paradisi* ofrece una perspectiva prometedora para el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas contra infecciones fúngicas, aprovechando los beneficios naturales de los compuestos presentes en esta fruta cítrica.

Dada su naturaleza y su potencial eficacia, la aplicación clínica de la cáscara de pomelo como agente antimicótico podría ser una opción prometedora en el tratamiento de infecciones fúngicas, proporcionando una alternativa terapéutica bien tolerada y potencialmente eficiente en el ámbito médico. Sin embargo, se requieren más estudios clínicos para validar y establecer las pautas óptimas de uso en entornos terapéuticos específicos.

IV.2. Conclusiones

- Se concluye que el extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) presentó efecto antimicótico *in vitro* frente cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.
- Los análisis fitoquímicos desarrollados demostraron la presencia de antraquinonas, compuestos fenólicos, lactonas α , β -insaturadas, taninos, antocianinas, azúcares reductores, flavonoides y alcaloides.
- Las concentraciones del 50% y 90% del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) presentaron efecto antimicótico frente *Candida albicans* ATCC 10231.
- Se concluye que las medias de los diámetros en concentraciones del 30%, 50% y 90% del extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi* (pomelo) fueron inferiores a los obtenidos por el control positivo fluconazol 24,4670 mm.

IV.3. Recomendaciones

- Se recomienda llevar a cabo análisis cuantitativos a nivel microbiológico como la concentración mínima inhibitoria y la concentración mínima bactericida
- Se sugiere ampliar la marcha fitoquímica para identificar de manera más exhaustiva los compuestos presentes en el extracto etanólico. Esto podría proporcionar información valiosa sobre los posibles agentes antimicóticos presentes en *Citrus paradisi*, lo que contribuiría a la comprensión de su mecanismo de acción.
- Es esencial destacar la importancia de continuar investigando las diferentes propiedades farmacológicas al extracto etanólico del epicarpio de *Citrus paradisi*.
- Realizar la fabricación de nuevos medicamentos antifúngicos y brindar más alternativas en tratamientos para pacientes con problemas de *Candida Albicans*.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Talapko J, Juzbašić M, Matijević T, Pustijanac E, Bekić S, Kotris I, et al. *Candida albicans*-the virulence factors and clinical manifestations of infection. *J Fungi* [Internet]. 2021;7(2):1–19. Available from: <https://www.mdpi.com/2309-608X/7/2/79>
2. Organización Mundial de la Salud (OMS). La OMS publica su primera lista de hongos que constituyen una amenaza para la salud [Internet]. 25 de octubre. 2022. Available from: <https://www.who.int/es/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi>
3. Quindós G, Marcos C, San R, Mateo E, Eraso E. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. *Int Microbiol* [Internet]. 2018;21(3):107–19. Available from: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10123-018-0014-1>
4. Lone S, Ahmad A. *Candida auris*—the growing menace to global health. *Mycoses* [Internet]. 2019;62(8):620–37. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/myc.12904>
5. Ghazi S, Rafei R, Osman M, El Safadi D, Mallat H, Papon N, et al. The epidemiology of *Candida* species in the Middle East and North Africa. *J Mycol Med* [Internet]. 2019;29(3):245–52. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1156523319301088>
6. O’Leary R, Einav S, Leone M, Madách K, Martin C, Martin I. Management of invasive candidiasis and candidaemia in critically ill adults: expert opinion of the European Society of Anaesthesia Intensive Care Scientific Subcommittee. *J Hosp Infect* [Internet]. 2018;98(4):382–90. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0195670117306473>
7. Nishimoto A, Sharma C, Rogers P. Molecular and genetic basis of azole antifungal resistance in the opportunistic pathogenic fungus *Candida albicans*. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2020;75(2):257–70. Available from: <https://academic.oup.com/jac/article/75/2/257/5585656?login=false>

8. Pineda J, Cortés A, Uribarren T, Castañón L. Candidosis vaginal. Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. *Rev Médica Risaralda* [Internet]. 2017;23(1):38–44. Available from: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/fr/biblio-902070>
9. Ministerio de salud. Boletín epidemiológico del Perú [Internet]. Vol. 26. 2017. Available from: <https://www.dge.gob.pe/portal/docs/vigilancia/boletines/2017/35.pdf>
10. Casanova E, Navarrete P. Perfil epidemiológico y características clínicas de la onicomycosis en población militar. *Med Cutan Iber Lat Am* [Internet]. 2017;45(3):191–4. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cutanea/mc-2017/mc173d.pdf>
11. Aroca J, Martínez P, Esteban L, González A, García I, Menchero S. Epidemiología y etiología de la candidiasis vaginal en mujeres españolas e inmigrantes en Fuenlabrada (Madrid). *Rev Esp Quimioter* [Internet]. 2020;33(3):187–92. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7262383/>
12. Perreira R, Fontenelle R, Brito E, Morais S. Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2021;131(1):11–22. Available from: <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/131/1/11/6715364?login=false>
13. Razavi B, Hosseinzadeh H. A Review of the Effects of *Citrus paradisi* (Grapefruit) and Its Flavonoids, Naringin, and Naringenin in Metabolic Syndrome [Internet]. 2nd ed. *Bioactive Food as Dietary Interventions for Diabetes*. Elsevier Inc.; 2019. 515–543 p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128138229000345>
14. Trejo I. Efecto antimicótico de extractos vegetales para su aplicación en odontopediatría [Internet]. [Tesis para obtener el grado en ciencias odontológicas en el área de odontopediatría] Universidad Autónoma de Nuevo León; 2021. Available from: <http://eprints.uanl.mx/23788/1/1080328522.pdf>
15. Martínez D, Fuentes J, Martínez G. Actividad antifúngica del extracto alcohólico de *Citrus x paradisi* (Pomelo) y *Cestrum nocturnum* (Huele de

- noche) contra *Geotrichum* spp., *Aspergillus niger* y *Rhizopus* spp [Internet]. [Tesis para obtener el grado de Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica]Universidad de Ixtlahuaca CUI; 2021. Available from: <https://deptoeditorial.wixsite.com/deptoeditorial-uicui/dn-n-3actividad-antifungica-del-ext>
16. Liu Y, Benohoud M, Yamdéo J, Gong Y, Orfila C. Green extraction of polyphenols from citrus peel by-products and their antifungal activity against *Aspergillus flavus*. *Food Chem X* [Internet]. 2021;12(1):1–10. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34761200/>
 17. Soledad S. Actividad Antifúngica In Vitro del extracto Etanólico de semilla de *Citrus Paradisi* “Toronja” sobre *Candida Albicans* ATCC10231 comparado con Clotrimazol [Internet]. [Tesis para obtener el grado de médico cirujano] Universidad César Vallejo; 2018. Available from: <https://repositorio.ucv.edu.pe/handle/20.500.12692/25366>
 18. Vilchez R, Alayo J. Actividad antifúngica in vitro del aceite esencial de la cáscara de *Citrus paradisi* Macfad (Toronja) frente a *Aspergillus niger* [Internet]. [Tesis para obtener el grado de químico farmacéutico] Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2022. Available from: <http://168.121.45.179/handle/20.500.11818/5832>
 19. Sesa I, Torres L. Efecto antifúngico del aceite esencial de *Citrus reticulata* (mandarina) y *Citrus sinensis* (naranja tangelo) sobre *Candida albicans* in vitro [Internet]. [Tesis para obtener el grado de químico farmacéutico] Universidad Roosevelt; 2021. Available from: <http://50.18.8.108/handle/20.500.14140/463>
 20. Hernandez R, Mendoza C. Metodología de la Investigación. Ciudad de México: Mc Graw Hill; 2018. 714 p.
 21. Baena G. Metodología de la Investigación. 3 ed. Grupo Editorial Patria; 2017. 141 p.
 22. Guerrero G, Guerrero M. Metodología de la Investigación. 4 ed. Mexico: Grupo Editorial Patria; 2014.
 23. Cegarra J. Metodología de la investigación científica y tecnológica. 1st ed. Madrid: Diaz de Santos; 2004. 372 p.
 24. Ioachimescu O. Metodología de la investigación médica, ¿A dónde vas? *J Investig Med*. 2021;69(1):2–3.

25. Gallardo E. Metodología de la Investigación. 1 ed. Huancayo: Universidad Continental; 2017. 96 p.
26. Valenzuela C, Gongora N, Dueñas M, Velazquez L, Ramos A, Valenzuela N. Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda. Rev Colomb Cienc Quím Farm [Internet]. 2019;48(1):94–111. Available from: <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80068>
27. Bruneton J. Farmacognosia. Fitoquímica. Plantas medicinales. 1st ed. Zaragoza: Acribia; 2001. 1120 p.
28. Lock O. Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales. 3rd ed. Lima: Pontificia universidad católica del Perú; 2016. 287 p.
29. Microbiologics. Kwik Stik Instructions for Use [Internet]. Microbiologics. 2018. p. 1–6. Available from: https://www.microbiologics.com/core/media/media.nl?id=516&c=915960&h=be1fe2eebf3be3ec26d4&_xt=.pdf
30. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lecca Garc. Lima: Ministerio de salud; 2002. 1–67 p.
31. Castro E. Bioestadística aplicada en investigación clínica: conceptos básicos. REV MED CLIN CONDES [Internet]. 2019;30(1):1–10. Available from: doi: 10.1016/j.rmclc.2018.12.002
32. Rodríguez V, Rodríguez A, Zerquera R. “La ética y la bioética en la formación del farmacéutico”. Cuad Educ y Desarro [Internet]. 2011; Available from: <http://www.eumed.net/rev/ced/index.htm>

ANEXOS

ANEXO A. Instrumentos de recolección de datos

Tabla 8. Ensayo microbiológico

N°	Frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231				
	Etanol	Fluconazol	Ext 30 %	Ext 50 %	Ext 90 %
1					
2					
3					
4					
5					
6					
7					
8					
9					
10					

Tabla 9. Marcha fitoquímica del extracto etanólico

IDENTIFICACION DE METABOLITOS SECUNDARIOS		
Metabolitos secundarios	Reactivos	Resultado
Quinonas	Borntrager	
Compuestos fenólicos	FeCl ₃	
Flavonoides	Shinoda	
Antocianinas	NaOH 10%	
Taninos	Gelatina	
Taninos	Gelatina Sal	
Alcaloides	Dragendorff	
Alcaloides	Wagner	
Alcaloides	Mayer	
Triterpenos y Esteroides	Liebermann Burchard	
Lactonas α , β insaturadas	Baljet	
Saponinas	Espuma	

Leyenda:

- (-) Ausente
- (+) Mínimo
- (++) Mediano
- (+++) Abundante

Tabla 10. Ensayo de Solubilidad

TUBO	SOLVENTES	RESULTADOS
N° 1	Éter de petróleo	
N° 2	Diclorometano	
N° 3	Cloroformo	
N° 4	Butanol	
N° 5	Etanol de 70°	
N° 6	Metanol	
N° 7	Agua destilada	
N° 8	Dimetilsulfóxido	

Leyenda:

Insoluble: (-)

Poco soluble: (+)

Medianamente soluble: (++)

Muy soluble: (+++)

ANEXO B. Matriz de consistencia

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis
Problema General	Objetivo General	Hipótesis General
¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) presenta efecto antimicótico in vitro frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.
Problemas Específicos	Objetivos Específicos	Hipótesis Específicas
¿Qué tipo de metabolitos secundarios responsables del efecto antimicótico in vitro posee el extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo)?	Identificar los tipos de metabolitos secundarios presentes en el extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) responsables del efecto antimicótico in vitro	El extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) posee metabolitos secundarios responsables del efecto antimicótico in vitro.
¿Tiene efecto antimicótico in vitro el extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Determinar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) tiene efecto antimicótico in vitro a concentraciones del 30%, 50% y 90% frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231
¿Cuál es el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) con fluconazol frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231?	Comparar el efecto antimicótico in vitro del extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) con fluconazol frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	El efecto antimicótico del extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo) es significativamente mayor comparado con fluconazol frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231

ANEXO C. Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	Nº DE ÍTEMS	VALOR
<p>VARIABLE INDEPENDIENTE</p> <p>Extracto etanólico del epicarpio de <i>Citrus paradisi</i> (Pomelo)</p>	Fitoquímica	Marcha fitoquímica	Ordinal	13	(-) Ausente (+) Mínimo (++) Mediano (+++) Abundante
<p>VARIABLE DEPENDIENTE</p> <p>Efecto antimicótico in vitro frente cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231</p>	<p>Microbiológico</p> <p>(Método de difusión en agar)</p>	Medición de diámetro inhibición (mm)	Razón	10	<p><8 mm: nulo (-)</p> <p>8 – 14 mm: Baja sensibilidad (+)</p> <p>14 – 20 mm: Mediana sensibilidad (++)</p> <p>>20 mm: Sumamente sensible (+++)</p>

ANEXO D. Certificado Taxonómico

José R. Campos de la Cruz
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. 3796
Cel: 963689079
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACION DE IDENTIFICACION BOTANICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO. CBP 3796 – INSCRITO EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIONES DE IDENTIFICACION TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA – RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, los Bachilleres ESPINOZA JARA EDITH GÉLICA y CIEZA NUÑEZ DAINE, tesis de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación para desarrollar el proyecto de tesis titulado: EFECTO ANTIMICOTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE *Citrus paradisi* (POMELO) FRENTE *Candida albicans* ATCC 10231, han solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del departamento de Lima, provincia de Huaral, distrito de Huaral, Fundo Alan Smith, donde es cultivada con el nombre de “pomelo”, la muestra ha sido identificada como *Citrus paradisi* Macfad. Según la base de datos W³Tropicos del Missouri Botanical Garden, que siguen 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), actualizado por APG IV (2016), el sistema APG evita el uso de la nomenclatura taxonómica clásica por arriba de orden. Chase & Reveal en APG III (2009) consideran a todas las plantas verdes en la Clase Equisetopsida. Teniendo en cuenta los datos de W³Tropicos, APG III y APG IV, para la especie identificada se adapta las siguientes categorías taxonómicas y clados:

Reino: Plantae
División: Angiospermas
Clase: Equisetopsida
Subclase: Magnoliidae
Superorden: Rosanae
Orden: Sapindales
Familia: Rutaceae
Género: Citrus
Especie: *Citrus paradisi* Macfad.

Nombre vulgar: Pomelo

Se expide la presente certificación para fines de investigación científica.

Lima, 24 de octubre del 2023



Jr. Sánchez Silva 156 – Piso 2–Urb. Santa Luzmila –Lima 07 -Lima

ANEXO E. Informe de análisis de laboratorio



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

Informe de Resultados

Solicitado por: Bach. Espinoza Jara Edith Gelica
Bach. Cieza Nuñez Daine

Muestra: Extracto etanólico del epicarpio de *citrus paradisi*

Fecha de ensayo: 15-10-2023

Microorganismo	Diámetros de inhibición en mm				
	90%	50%	30%	Fluconazol	ETANOL
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	9.33	8.14	7.64	24.48	6
	9.35	8.19	7.60	24.45	6
	9.37	8.12	7.62	24.50	6
	9.34	8.10	7.68	24.47	6
	9.36	8.18	7.64	24.48	6
	9.35	8.11	7.59	24.45	6
	9.34	8.11	7.60	24.46	6
	9.33	8.19	7.63	24.43	6
	9.35	8.16	7.62	24.49	6
	9.36	8.14	7.65	24.46	6

*Tamaño de pozo: 6mm, por lo que al reportarse 6 mm es indicativo que no existe formación halo de inhibición

*Concentración del inoculo: 1.5×10^8 UFC/mL

Lic. T.M. Walter A. Siri Rodriguez

CTMP. 10808

ANEXO F. Certificado de Agar dextrosa sabouraud



Page 1 of 2

CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0041B
SABOURAUD DEXTROSE AGAR 500g

LOT NUMBER 3701813

EXPIRY DATE 2028.07.31

DATE OF MANUFACTURE 2023.07.15

Delivery/Customer information
Date Printed 2023.08.03
Delivery No.
Customer Customer Order Number

Physical Characteristics	Results	Specification
Appearance	Straw powder	Straw powder
Colour on reconstitution	Straw 2	Straw 1-2
pH (25°C)	5.6	5.4 - 5.8
Clarity	Clear	Clear

Microbiological Performance	Control cfu	Test cfu	Recovery Test %	Description
Aerobic incubation at 20-25°C for up to 5 days				
<i>Saccharomyces carlsbergensis</i> ATCC®2700	23	26	113	Cream, domed cols
<i>Candida albicans</i> ATCC®10231	33	33	100	Cream, domed cols
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC®16404	47	55	118	White mycelia, black spores

Testing has been performed in accordance with ISO11133:2014				
Aerobic incubation at 25 ± 2°C for 5 days				
<i>S. cerevisiae</i> ATCC®9763 WDCM00058	54	61	113	Cream, domed cols
<i>A. brasiliensis</i> ATCC®16404 WDCM00053	93	110	118	White mycelia, black spores

Control Medium: Sabouraud Dextrose Agar

A satisfactory result is represented by recovery of positive strains equal to or greater than 70% of the control medium. Refer to product specification for full details.



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

FDA Reg No. 8010056

Certificate No. FM 00014



CERTIFICATE OF ANALYSIS

PRODUCT CM0041B
SABOURAUD DEXTROSE AGAR 500g
LOT NUMBER 3701813

The information given is believed to be correct, all results reported in this certificate relate only to the product and lot stated in this certificate of analysis. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Quality Control Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke. The results reported were obtained at the time of release.
Lot Accepted. 2023.07.31

Carissacourtney

.....
Carissa Courtney
Director Quality, EMEA

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
NCTC and National Collection of Type Cultures are registered trade marks of the Health Protection Agency.



Tested by the Quality Control Laboratory
OXOID LIMITED
Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
oxoid@thermofisher.com www.oxoid.com

FDA Reg No. 8010096

Certificate No. FM 00914

ANEXO G. Certificado de análisis de *Candida albicans* ATCC 10231



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<p>SPECIFICATIONS: Product Name: Candida albicans Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1490** Reference Number: ATCC® 10231™* Passage from Reference: 3 (7) Mean Assay Value (MAV): 6.6E+07 CFU per pellet Expiration Date: 2025/01/31</p>	<p>RELEASE INFORMATION: Quality Control Technologist: Christine Condon Release Date: 2023/02/27</p>
---	--

Performance	
<p>Macroscopic Features: Small to medium, white, circular, convex, dull colonies.</p> <p>Microscopic Features: Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.</p>	<p>Medium: Nutrient</p> <p>Method: Gram Stain (1)</p>
<p>ID System: MALDI-TOF (1)</p> <p>See attached ID System results document.</p>	
 Amanda Kuperus Director of Quality Control AUTHORIZED SIGNATURE	

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.

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



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



(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

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 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.

Run Creation Date/Time: 2023-02-23T11:59:14.561 mew

Applied MSP Library(ies): BDAL, Mycobacteria Library (bead method), Filamentous Fungi Library

Sample Name	Sample ID	Organism (best match)	Score Value
C12 (+++) (A)	443-1490	Candida albicans	2.13

Comments:

N/A



Statistical Analysis Certificate

Microorganism Name: *Candida albicans*
Reference #: ATCC® 10231™*
Catalog #: 0443
Lot #: 443-1490**
Expiration Date: 2025/01/31
(7) Mean Assay Value (MAV): 6.6E+07 CFU per pellet
Standard Deviation: 1.1E+07
Coefficient of Variation: 17 %
99% Confidence Interval of 6.1E+07 to 7.2E+07 CFU
95% Confidence Interval of 6.2E+07 to 7.1E+07 CFU

Method used to determine Mean Assay Value: Spiral Plate Method
Medium Employed: TSA
Incubation Time and Temp: 48-72 hrs at 28-32 degrees C

A handwritten signature in black ink that reads "Amanda Kuperus".

Amanda Kuperus
Director of Quality Control
AUTHORIZED SIGNATURE

(7) The Mean Assay Value (MAV) stated above may deviate from the end-user's MAV based on variables inherent to each laboratory environment, such as methods, media type, equipment, pipettes, and individual technician technique.

The last digit(s) of the lot number appearing on the product label and packing slip are merely a packaging event number. The lot number displayed on this certificate is the actual base lot number. The information included in this Statistical Analysis Certificate is strictly based on the product's lot number. A product lot number may be assigned to multiple packaging configurations. As a result, this certificate only lists the lot number and does not include a product description.

© 2012 Microbiologics, Inc. All Rights Reserved. 200 Cooper Avenue North Saint Cloud, MN 56303

ANEXO H. Evidencias fotográficas



Figura 1. Recolección de la muestra



Figura 2. Muestra de tipo Citrus paradisi (pomelo)



Figura 4. Lavado del fruto



Figura 3. Separado de cáscara



Figura 5. Procedimiento de secado de la muestra



Figura 6. Procedimiento de molienda de la muestra



Figura 7. Preparación del macerado del extracto etanólico

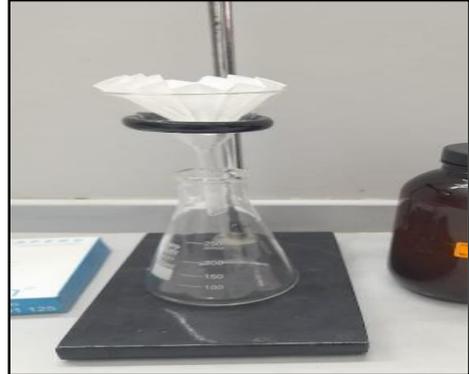


Figura 8. Procedimiento de filtración del macerado del extracto etanólico

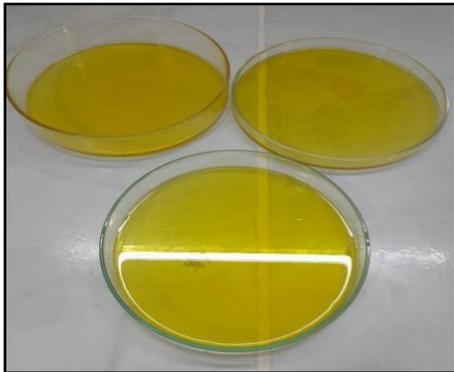


Figura 9. Obtención de extracto seco

PRUEBA DE SOLUBILIDAD



Figura 10. Añadiendo extracto seco al tubo de ensayo para prueba de solubilidad

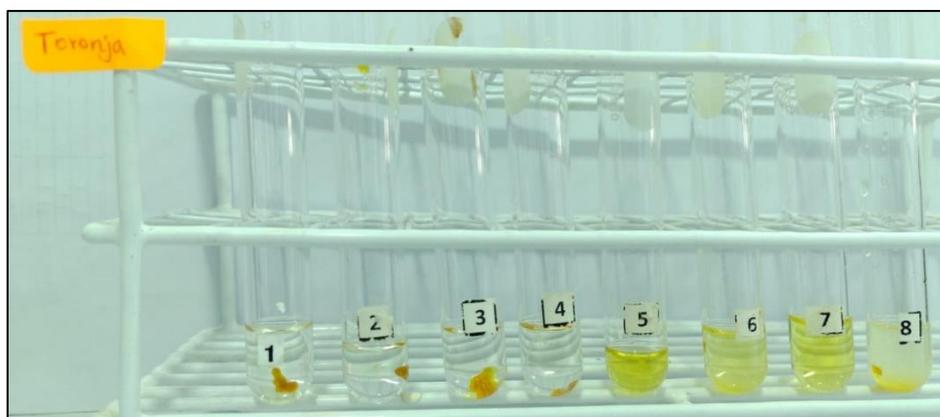


Figura 11. Resultado de prueba de solubilidad

MARCHA FITOQUÍMICA



Figura 12. Adición de extracto a los tubos de ensayo

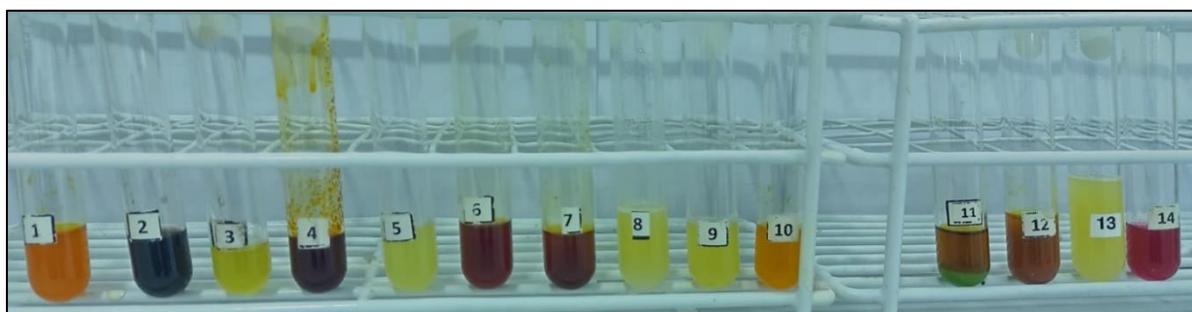


Figura 13. Resultado de la marcha fitoquímica

ENSAYO MICROBIOLÓGICO



Figura 14. Pesando del Agar



Figura 15. Autoclave para el uso en la prueba microbiológica



Figura 16. Agar Saboraud Dextrosa

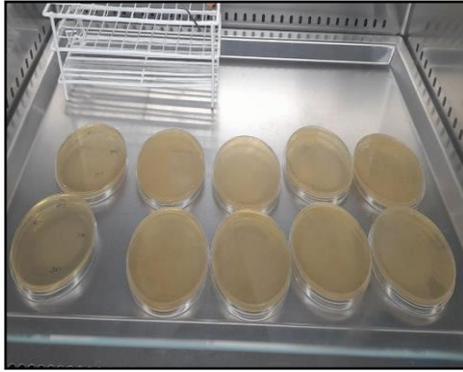


Figura 17. Placas preparadas

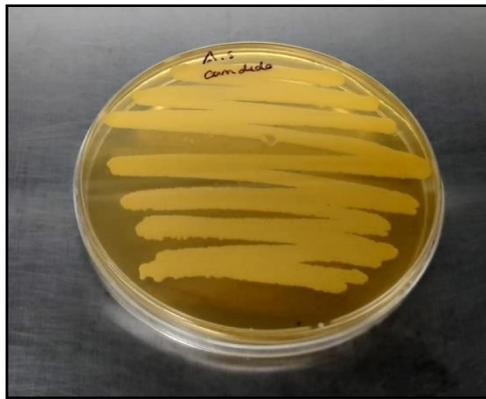


Figura 18. Cepa biológica de tipo: *Candida albicans* ATCC 10231



Figura 19. Comparación de turbidez mediante el reactivo de Mc. Farland



Figura 20. Rotulado de placas



Figura 21. Sembrado de la cepa biológicas en las placas



Figura 22. Efectuando pozos en agar con ayuda de un sacabocado



Figura 23. Preparación de discos



Figura 24. Incubación de placas

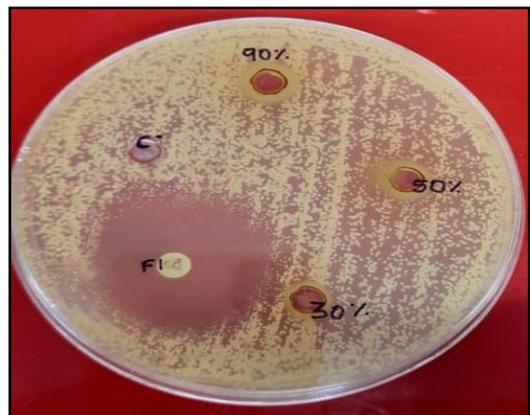
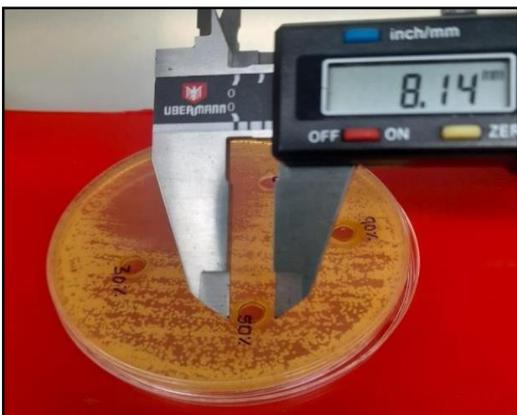


Figura 25. Lectura de resultados

ANEXO I. Porcentaje de rendimiento

Determinación del porcentaje de rendimiento

Tenemos la cantidad de producto obtenido en la extracción química.

$$\%E = \frac{Pf}{Pi} \times 100$$

Dónde: %E = porcentaje de rendimiento

Pf = peso final (extracto seco)

Pi = peso inicial (muestra molida)

Fuente : Efecto de los extractos secos clorofórmico y de diclorometano de *Tropaeolum tuberosum* (Ruiz & Pavón) mashua sobre los parámetros seminales y toxicidad aguda.

<http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v48n1/0034-7418-rccqf-48-01-94.pdf>

Extracción por maceración

$$\%E = \frac{18.6 \text{ g}}{300 \text{ g}} \times 100 = 6.2\%$$

Pf= 18.6 g. extracto seco obtenido

Pi = 300 g muestra molida

ANEXO J. Constancia de recolección de la muestra

CARTA DE AUTORIZACIÓN PARA LA RECOLECCIÓN DE LA MUESTRA

Yo, ROBEN PERALTA ROSA con DNI: 43958608 en calidad de responsable de la Parcela EL VISO ALAGUAYTA ubicado en el distrito de HUARAL, provincia HUARAL y departamento de LIMA.

Autorizo a los estudiantes de la Universidad María Auxiliadora, de la Escuela Profesional de FARMACIA Y BIOQUÍMICA, Bach. Espinoza Jara Edith Gelica y Bach. Cieza Nuñez Daine, con título de proyecto de investigación, "EFECTO ANTIMICOTICO IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO DEL EPICARPIO DE *Citrus paradisi* (POMELO) FRENTE *Cándida albicans* ATCC 10231*", para que puedan recolectar la muestra correspondiente.

Huaral, 12 de setiembre del 2023



.....
Firma