



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

**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE  
SEMILLAS Y EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE  
*Moringa oleifera* "MORINGA" FRENTE A *Candida*  
*albicans***

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

**AUTORES:**

**Bach. ZEÑA GONZALES INGRID MARGOT**

**Bach. DÍAZ UCHOFEN JORGE LUIS**

**ASESOR:**

**Mg. MONTÁNCHEZ MERCADO, ENRIQUE**

**LIMA – PERÚ**

**2021**

## Dedicatoria

*A mi padre José del Carmen, ahora mi ángel del cielo, por haber sido mi motivo de inspiración en todo este esfuerzo y proceso de aprendizaje profesional. Porque mientras estuvo en vida me apoyó incondicionalmente, fue y será siempre un ejemplo de perseverancia, fortaleza y humildad, impulsándome siempre actuar de una manera más humana y con justicia.*

*Ingrid Margot Zeña Gonzales*

*A mis hijos, Johan y Akira quien fueron mi motor y motivo para seguir adelante en esta etapa universitaria, una etapa con muchos sacrificios, uno de ellos el factor tiempo, tiempo que muchas veces lo dediqué a mis estudios y al trabajo, tiempo que tuve que sacrificar el no estar con ellos, pero que hoy vale la pena, pues siento que estoy cumpliendo uno de mis mayores sueños. Para ustedes hijos míos con mucho amor y cariño todo mi esfuerzo.*

*Jorge Luis Díaz Uchofen*

## Agradecimiento

*Agradezco en primer lugar a Dios por darme la fortaleza para no dejarme vencer ante las diferentes pruebas que la vida me ha presentado y darme la oportunidad de lograr esta gran meta.*

*A mí querida madre Virginia y a mis hermanos Jessica y Wilfredo, por estar a mi lado brindándome todo su apoyo incondicional en cada paso que di, a pesar de las situaciones muy difíciles que pasamos, sus consejos y confianza en mí alentaron cada uno de mis días.*

*A mí amado esposo, amigo y compañero de vida Manuel, tu apoyo y confianza ha sido sumamente importante, me has acompañado desde los inicios de esta nueva carrera profesional que no fue sencillo iniciar y culminar, pero siempre me ayudaste hasta donde te era posible e incluso más de lo que podías dar.*

*De igual manera a nuestro asesor de Tesis Dr. Enrique y los profesionales que aportaron con su experiencia y conocimientos en este proyecto tanto de manera profesional como personal.*

*Ingrid Margot Zeña Gonzales*

## Agradecimiento

*Agradezco en primer lugar a Jehová Dios quien siempre me cuido y oriento todo este tiempo, pues siempre estuvo a mi lado enseñándome el buen camino, dándome su fortaleza y amor.*

*A mis padres Elmer y Esther y como no a mi abuelita Rosa, me enseñaron que todo sacrificio tiene su recompensa, y que siempre obre con buena fe, me enseñaron valores importantes en mi vida, valores que hoy me hacen el profesional que soy*

*A mí amada esposa, compañera leal y fiel, quien cuido de mi en todo momento, quien estuvo a mi lado dándome su amor y su apoyo incondicional con mucho amor y cariño para ti mi amor, mi felicidad y fruto de mi esfuerzo es tanto mío como tuyo mi esposa querida.*

*De igual manera a nuestro asesor de Tesis Dr. Enrique y los profesionales que aportaron con su experiencia y conocimientos en este proyecto tanto de manera profesional como personal.*

*Jorge Luis Díaz Uchofen*

## ÍNDICE GENERAL

Resumen .....	ix
Abstract .....	x
I. INTRODUCCIÓN .....	11
II. MATERIALES Y MÉTODOS .....	17
2.1 Enfoque y diseño de investigación.....	17
2.2 Población, muestra y muestreo.....	17
2.3 Variables de investigación .....	17
2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos .....	18
2.5 Plan de recolección de datos .....	18
2.6.Métodos de análisis estadísticos.....	21
2.7 Aspectos éticos .....	22
III. RESULTADOS.....	23
IV. DISCUSIÓN .....	30
4.1. Discusión .....	30
4.2. Conclusiones.....	33
4.3 Recomendaciones .....	34
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	35
ANEXOS .....	38

## Índice de Tablas

Tabla 1. Análisis de los datos para los grupos experimentales y control sobre <i>Candida albicans</i> :.....	23
Tabla 2. Análisis de la distribución normal para cada grupo de tratamientos.....	25
Tabla 3. Análisis de la homogeneidad de varianzas .....	26
Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los grupos de tratamientos.....	26
Tabla 5. Análisis de los datos de los grupos por medio de la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos.....	27
Tabla 6. Valoración de la actividad antimicótica de Moringa oleífera según escala de Duraffourd .....	28
Tabla 7. Pruebas de solubilidad el aceite de moringa.....	29
Tabla 8. Determinación del índice de refracción del aceite.....	29

## Índice de Figuras

Figura 1. Campo oscuro y blanco del microscopio Abbe .....	20
Figura 2. Gráfico de medias de los grupos de tratamientos .....	24
Figura 3. Recolección de la muestra vegetal.....	47
Figura 4. Lavado y desinfección de la muestra vegetal.....	47
Figura 5. Determinación del peso de la muestra vegetal .....	47
Figura 6. Preparación de las hojas de moringa .....	48
Figura 7. Pulverización y tamizaje de las hojas de moringa.....	48
Figura 8. Pulverizado de hojas de moringa .....	48
Figura 9. Obtención, lavado y secado de las semillas de moringa.....	49
Figura 10. Maceración, filtrado y concentrado del extracto de hojas de moringa.	50
Figura 11. Preparación de los extractos etanólicos de hojas de moringa a diferentes concentraciones.....	50
Figura 12. Preparación del equipo de prensado en frío .....	50
Figura 13. Proceso de obtención del aceite de moringa por prensado en frío .....	51
Figura 14. Centrifugado y obtención de la muestras en estudio.....	51
Figura 15. Pruebas de solubilidad.....	52
Figura 16. Determinación del índice de refracción del aceite de moringa.....	52
Figura 17. Proceso de activación de la cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.	53
Figura 18. Preparación del inóculo de trabajo al 0.5 de McFarland .....	54
Figura 19. Sembrado en placa del inóculo .....	54
Figura 20. Preparación de los pozos en placa petri .....	54
Figura 21. Aplicación de las muestras en estudio en los pozos .....	55
Figura 22. Incubación de las placas con <i>Candida albicans</i> y tratamientos .....	55
Figura 23. Medición del halo de inhibición .....	55

## Índice de Anexos

Anexo A : Matriz de Consistencia.....	39
Anexo B : Ficha de registro de datos de los diámetros del halo de Inhibición producidos sobre <i>Candida albicans</i> .....	41
Anexo C : Operacionalización de variables .....	42
Anexo D : Identificación taxonómica de la planta.....	43
Anexo E : Certificado ATCC de la cepa de <i>Candida albicans</i> .....	44
Anexo F : Escala de Duraffourd .....	46
Anexo G : Evidencias del trabajo de campo.....	47

## Resumen

**Objetivo:** Demostrar la actividad antimicótica del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" frente *Candida albicans*

**Métodos:** La presente investigación presentó un enfoque cuantitativo, de nivel explicativo, con corte transversal prospectivo, el diseño empleado fue experimental, la población de estudio fue *Moringa oleífera* "Moringa" recolectada en el distrito de Chiclayo, departamento de Lambayeque, las muestras empleadas fueron el aceite obtenido de las semillas de la planta por medio de prensado en frío y el extracto etanólico obtenido por medio de maceración en alcohol de 96° ambas a las concentraciones del 50% y 100%, la actividad antibacteriana se determinó por medio del método de difusión en pozo con 30 repeticiones por tratamiento, los grupos control estuvieron conformados por etanol (negativo) y nistatina (positivo).

**Resultados:** El aceite esencial de las semillas obtuvo halos de inhibición de 10,92mm  $\pm$  0,39 y 13,55mm  $\pm$  0,36 para el 50% y 100% y el extracto etanólico presentó halos de inhibición de 13,62mm  $\pm$  0,35 y 16,89mm  $\pm$  0,35 para el 50% y 100% respectivamente, el control negativo presentó 6,21mm  $\pm$  0,19 y el positivo 25,77mm  $\pm$  0,36.

**Conclusiones:** El aceite esencial de las semillas y del extracto etanólico de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" a las concentraciones del 50% y 100% presentan actividad antimicótica frente a *Candida albicans*.

**Palabras claves:** *Candida albicans*, extracto etanólico, aceite esencial, *Moringa oleífera*.

## Abstract

**Objective:** To demonstrate the antifungal activity of the essential oil of seeds and ethanolic extract of *Moringa oleifera* "Moringa" leaves against *Candida albicans*.

**Methods:** This research presented a quantitative approach, explanatory level, with prospective cross-section, the design used was experimental, the study population was *Moringa oleifera* "Moringa" collected in the district of Chiclayo, department of Lambayeque, the samples used were the oil obtained from the seeds of the plant by means of cold pressing and the ethanolic extract obtained by means of maceration in 96 ° alcohol both at concentrations of 50% and 100%, the antibacterial activity was determined by means of the method of well diffusion with 30 repetitions per treatment, the control groups consisted of ethanol (negative) and nystatin (positive).

**Results:** The essential oil of the seeds obtained inhibition halos of 10.92mm + 0.39 and 13.55mm + 0.36 for 50% and 100% and the ethanolic extract presented inhibition halos of 13.62mm + 0, 35 and 16.89mm + 0.35 for 50% and 100% respectively, the negative control presented 6.21mm + 0.19 and the positive control 25.77mm + 0.36.

**Conclusions:** The essential oil of the seeds and the ethanolic extract of *Moringa oleifera* "Moringa" leaves at concentrations of 50% and 100% show antifungal activity against *Candida albicans*.

**Key words:** *Candida albicans*, ethanolic extract, essential oil, *Moringa oleifera*.

## I. INTRODUCCIÓN

Las infecciones micóticas son causadas por hongos, con un margen muy amplio ocasionando desde una infección en la piel, en la córnea hasta terminar perdiendo la vista o una infección pulmonar severa que acabe con la vida del paciente. *Candida albicans* es un hongo causante de más del 90% de las infecciones micóticas muco-superficiales, llamada candidiasis o candidosis.<sup>2</sup>

En las últimas décadas el contagio y las incidencias por hongos ha permutado, debido a cambios ambientales, incremento de terapias inmunosupresoras, enfermedades que afectan el sistema inmunológico, aumento de la resistencia al uso indiscriminado de los medicamentos antifúngicos, entre otros.<sup>3</sup>

A nivel mundial las infecciones micóticas superficiales afectan entre un 20 a 25% de la población mundial y su incidencia cada día va en aumento. Por ejemplo, la onicomicosis representa a más del 50% de problemas que ocurre en área ungueal y es la más prevalente, aumenta hasta un 60% conforme avance la edad, siendo una de las micosis superficiales de difícil diagnóstico y tratamiento.<sup>3</sup>

En México el 15 y 19% de las vaginitis son causadas por *Candida albicans*, existiendo además muchos factores como ambientales, obesidad, relaciones sexuales, ropa muy ajustada o sintética, etc., que predisponen a esta patología.<sup>4</sup>

En Ecuador la vulvovaginitis por *Candida* resulto ser más alta en mujeres en edad reproductiva. Un 55% de mujeres de una universidad informaron haber tenido al menos un episodio y el 9% indicaron haber tenido entre 4 a más infecciones por *Candida* durante el periodo de un año, es decir una candidiasis vulvovaginal recurrente. También, en el mismo país se ha reportado que el 50% de paciente que portan prótesis han desarrollado estomatitis subprotésica asociadas a *Candida albicans*.<sup>1,5</sup>

A nivel nacional la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID) en el 2016, ha informado que la colonización oral por *Candida albicans* fue del 40% a 70%, tanto en niños como en adultos sanos y que, además, esta

infección aumenta en pacientes con quimioterapia (50%), con radioterapia (70%) y con VIH (90%).<sup>6</sup>

A esta realidad debemos sumarle que la población hace uso de los medicamentos antifúngicos, no solo de manera terapéutica, sino, también, de forma preventiva, razón por la cual ha originado que haya una resistencia a estos medicamentos. Por otro lado, si bien cierto las micosis mucocutáneas están limitadas a mucosas, piel, uñas y pelo, no causan problemas de mortalidad, pero si causan problemas que afectan la salud de la población, más aún, si se vuelven crónicas. En ese sentido, se ha creído conveniente encontrar alternativas antifúngicas en una planta como la *Moringa oleífera*, que no promuevan resistencia y muestren efectividad en el tratamiento.

*Moringa oleífera*, es un árbol, llamado comúnmente moringa, es muy popular y se encuentra cultivado en diferentes partes del mundo; pertenece a la familia *Moringaceae*. Es un árbol caducifolio, crece rápidamente, sus raíces son anchas y tuberosas, hojas de coloración verde, floración abundante, con frutos colgantes y alargados que presentan en su interior semillas oscuras.<sup>7</sup>

Las partes más utilizadas de esta planta son las hojas y las semillas, por sus propiedades farmacológicas, debido a que contienen una gran cantidad de compuestos fitoquímicos. Las hojas contienen principalmente flavonoides (mirsetina, quercetina y kaempferol), ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido clorogénico y ácido cafeico), alcaloides, taninos y saponinas y el aceite esencial de las semillas contiene ácidos grasos y compuestos fenólicos y aromáticos.<sup>8,9</sup>

Dentro de sus propiedades terapéuticas la planta de moringa destaca por su actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antioxidante, hepatoprotectora, neuroprotector, anticancerígeno, antidiabético, regulador de la proliferación, detiene el ciclo celular y apoptosis.<sup>10</sup>

Los compuestos fitoquímicos de las hojas y aceite de la semilla de moringa pueden ser extraídos mediante varios métodos, algunos de ellos son extracción discontinua para las hojas y extracción mecánica por presión para las semillas. Los extractos tienen contacto directo del solvente con la muestra vegetal (proceso llamado maceración) y se obtienen eliminando parcial o totalmente el solvente mediante

calor y el aceite esencial de la semilla pueden ser extraído por extracción directa, haciendo uso de una presión mecánica.<sup>11</sup>

Con respecto a, *Candida albicans* es un hongo comensal que coloniza la cavidad oral, la vagina y el tracto gastrointestinal en la mayoría de los seres humanos, no obstante, también se puede convertir en un patógeno oportunista, provocando infecciones sistémicas generalmente en paciente con el sistema inmunológico deprimido. Es un microorganismo aerobio, su reproducción es asexual y por gemación, presenta dimorfismo para desarrollar su patogenicidad, de levadura se convierte en hifa para desarrollar su patogenicidad.<sup>12,13</sup>

Por otro lado, para determinar el efecto antimicrobiano de las plantas se utilizan diversos métodos, los más conocidos y utilizados son: el método de Kirby-Bauer y el método de pozo en agar. En ambos métodos el microorganismo tiene que ser sembrado en caldo nutritivo o agar Sabouraud.<sup>14</sup>

En el método de Kirby-Bauer se utilizan discos estériles de papel filtro, la cual tienen que embeberse con el preparado de la especie vegetal y colocarlo en la superficie de una placa con agar, posteriormente es llevado a incubación por 24 a 48 horas y finalmente se procede a la lectura a través de la formación de halos de inhibición alrededor del disco; la diferencia con el método de pozo en agar, radica en que no utiliza discos, solo realiza orificios con un sacabocados estéril en la placa con agar, donde se deposita las sustancias líquidas del preparado vegetal.<sup>14</sup>

Entre los antecedentes nacionales del estudio podemos mencionar a Moreno S. y Valqui D. (2019), evaluaron la supervivencia de *Listeria monocytogenes* ATCC 19115 frente a tres concentraciones de extracto etanólico de semillas de *M. oleífera*, para determinar la supervivencia antibacteriana se empleó el método de dilución en tubo en caldo Mueller Hinton y a concentraciones de 10, 40 y 60mg/mL, la supervivencia de *L. monocytogenes* se midió a través del recuento en placa y se contrastó con una placa control. Los resultados mostraron evidencia de disminución del crecimiento de las bacterias en las tres concentraciones tratadas, presentándose el efecto inhibitorio mayor a la concentración de 60mg/mL. Se concluyó que el extracto de 60mg/mL inhibe a *L. monocytogenes*.<sup>15</sup>

Rodriguez K.(2018) comparó el efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoina sobre *Escherichia coli*, el aceite esencial de moringa fue obtenido por destilación Soxhlet, para determinar el efecto antibacteriano se utilizó el método de difusión en disco, los discos fueron embebidos con el aceite de moringa y se colocaron en la superficie de las placas con *E. coli* al igual que los discos antibacterianos de gentamicina y nitrofurantoina, luego se incubaron por 48 horas y se procedió a la lectura de los halos de inhibición. De obtuvo resultados con respecto al tamaño del halo de inhibición del aceite de moringa de  $14.5\text{mm} \pm 0,63$ , la gentamicina produjo halos de inhibición de  $15,43\text{mm} \pm 0,62$  y la nitrofurantoina halos de inhibición de  $12,23\text{mm} \pm 0,85$ . Se concluyó que el aceite de moringa presenta actividad frente a *E. coli* muy parecida a la acción de la Gentamicina.<sup>16</sup>

Chero V. (2019), comparó el efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanólico de las hojas de *Moringa oleífera* sobre *Streptococcus mutans*, de cada extracto se usaron las siguientes concentraciones: 76 mg/mL, 38 mg/mL y 19 mg/mL, la prueba antibacteriana se realizó por Kirby-Bauer en pozo. Los halos de inhibición fueron de 17.96mm y 15.27mm para el extracto hidroetanólico en concentraciones de 76 mg/mL y 38 mg/mL, el extracto acuoso no presento efecto antibacteriano. Se concluyó que el extracto hidroetanólico si presenta efecto antibacteriano sobre *S. mutans*.<sup>17</sup>

Así mismo, entre los antecedentes internacionales podemos mencionar a Santos L., Silva P., Moura M., Carvalho A., Amorim P., Procopio T. et. al.(2021) quienes determinaron la actividad anti *Candida* de la lectina de las semillas de *Moringa oleífera*, la población consistió en cepas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, y *C. parapsilosis*, la concentración mínima fungicida para *Candida albicans* fue de  $80\mu\text{g/mL}$ , además, la lectina aumento la apoptosis y necrosis de *Candida spp.*, concluyéndose que la lectina de las semillas de *Moringa oleífera* presenta actividad fungistática y fungicida contra las especies de *Candida spp*, con diferencias según la especie.<sup>18</sup>

Guzmán M. (2018) evaluó el efecto antifúngico de *Moringa oleífera L.* frente a *Candida albicans*; para realizar el estudio el aceite fue extraído de las hojas secas pulverizadas de moringa la cual se mezcló con metanol, se filtró y luego fue llevado

a un rotavapor, se agregó DMSO para obtener las diferentes concentraciones del aceite de moringa (25%, 50% y 100%) de las cuales se determinó la actividad antifúngica mediante la técnica de Kirby-Bauer, el control positivo usado fue Nistatina. Se concluyó que el aceite esencial de moringa al 100% presenta efecto antifúngico frente a *Candida albicans* con una eficacia de 82.5%.<sup>19</sup>

Jarrin J. (2018), determino la capacidad antifúngica del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* obtenido por maceración en distintas concentraciones sobre cepa de *Cándida albicans*. Se colocaron los discos embebidos con el extracto de moringa al 25%, 50%, 75% y 100% sobre las placas con *C. albicans* y se incubaron por 2 días, después se midieron los halos de inhibición. Para la moringa al 25% con un halo promedio de 10.67mm, moringa al 50% promedio de 16.17mm, moringa al 75% promedio de 19.00mm y moringa al 100% 22.25mm, concluyendo que *C. albicans* es sensible al extracto hidroalcohólico de *M. oleífera*, pero Nistatina supera su eficacia.<sup>20</sup>

La frecuencia de las micosis superficiales ocasionadas por *Candida albicans* afecta incluso a personas sanas, sin embargo, la situación se agrava cuando infecta también a personas inmunocomprometidas pudiendo provocar en ellos hasta una candidemia que pondría en riesgo su vida; sumado a ello, las condiciones de nuestro clima favorecen el desarrollo de este patógeno en nuestro organismo y el uso descontrolado de medicamentos provoca que estos microorganismos se vuelvan resistentes, elevando los costos para su tratamiento.

*Moringa oleífera* es una planta conocida a nivel mundial con una gama de propiedades terapéuticas, sin embargo, son pocos los estudios a nivel nacional donde se exponen las propiedades de esta planta frente a *Candida albicans*, por ello, a través del presente estudio se planteará determinar la actividad del aceite esencial de las semillas y del extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* "moringa" frente a la *Candida albicans*, con el propósito de comprobar el poder inhibitorio contra este hongo del aceite y extracto de la planta.

Los resultados del estudio servirán de una fuente de información nueva, permitirán reconocer los beneficios de esta planta frente a un hongo muy común de gran poder de infección y aprovecharlo en beneficio de la salud de la sociedad, así mismo,

establecer políticas de uso complementario en del tratamiento de estas enfermedades con el objetivo de reducir la resistencia de los microorganismos.

El objetivo general planteado en el presente proyecto es demostrar la actividad antimicótica del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" frente *Candida albicans*.

De la misma manera se plantean la siguiente hipótesis general el aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" presentan actividad antimicótica frente *Candida albicans*.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Enfoque y diseño de investigación

La presente investigación presenta un enfoque cuantitativo, de nivel explicativo, prospectivo de corte transversal y de diseño experimental debido existirá manipulación de las variables por parte del investigador durante la ejecución del estudio.

### 2.2 Población, muestra y muestreo

La investigación empleará una muestra de la población total conformada por *Moringa oleífera* "Moringa" recolectada en la zona del distrito de Chiclayo del departamento de Lambayeque ubicada a 6.7723° de latitud Sur y 79.8495° de longitud Oeste.

Criterios de Inclusión: Se seleccionaron las hojas de la planta, estas fueron arrancadas del árbol, estuvieron en buenas condiciones, sin signos de deterioro o contaminación por microorganismos, las vainas deben ser secas, pertenecer a la especie vegetal identificada y ser recolectada entre las 10:30 y 11:00 horas del día.

Criterios de exclusión: No correspondieron con la selección de las muestras aquellas hojas encontradas en el suelo, recolectadas de otra especie vegetal no identificada previamente, ser de tamaño diferente y que fuera recolectada en una hora diferente a la indicada.

La muestra estuvo conformada por 500 gr, de semilla y 2 kilogramos de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa".

Con respecto al tipo de muestreo fue no probabilístico por conveniencia. Los criterios de inclusión que se tendrán en cuenta son las buenas condiciones de la planta como para lo cual las muestras recolectadas deben ser frescas y pertenecer a la misma especie vegetal, no presentar contaminación ni deterioro y los criterios de exclusión se consideran muestras recolectadas fuera de la zona de ubicación, contaminación por plagas o herbicidas.

### 2.3 Variables de investigación

Las variables de investigación son el aceite de moringa y el extracto etanólico moringa, como variables independientes y a la actividad antimicótica contra

*Candida albicans* como variable dependiente. Según la naturaleza del estudio es una variable cuantitativa con escala de medición de razón.

**Definición conceptual:** La actividad antimicótica es la inhibición en el crecimiento o desarrollo normal de las bacterias <sup>21</sup>.

**Definición operacional:** Halo de inhibición formado al exponer la moringa en aceite o extracto frente a medio con células de *Candida albicans*.

#### 2.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

La técnica que se empleará para la recolección de datos será la de Difusión en pozo de agar con posterior medida del halo de inhibición formado alrededor del pozo <sup>22</sup>.

En cuanto al instrumento que se empleará para la recolección de datos será el vernier digital y tabla de registro de datos.

#### 2.5 Plan de recolección de datos

##### 2.5.1. Autorización y coordinaciones previas para la recolección de datos

Antes de iniciar la recolección de la muestra vegetal se solicitaron los permisos respectivos al propietario del lugar para acceder a recolectar las muestras, esta se realizó a media mañana entre las 10:30 a 11:00 horas, para evitar que las hojas mantengan en sus hojas la humedad de la mañana. Se recolectaron ramas enteras de la planta con inflorescencia para solicitar la identificación taxonómica a un profesional biólogo especialista en botánica con experiencia en identificación taxonómica de plantas, quien emitió la constancia respectiva con el nombre científico de la especie vegetal que se puede apreciar en el anexo D.

##### 2.5.2. Recolección de la muestra vegetal

La muestra vegetal fue seleccionada según los criterios de inclusión y exclusión descritos en la metodología, se recolectó 4 kilogramos de hoja y 3 kilogramos de vainas secas de la planta aplicando los criterios de inclusión y exclusión para su selección y recolección.

La semilla de moringa se obtuvo de las vainas recolectadas de la planta, se abrió la vaina que protege y posteriormente la cascara de las semillas hasta obtener 800g de estas semillas.

Se recolectaron 4 kilogramos de hojas de la moringa, de la misma manera anterior considerando los criterios de inclusión y exclusión. Una vez recolectada se procedió a lavar las hojas con abundante agua, luego se desinfectaron con lejía al 1% colocando en una tina por 10 minutos para posteriormente ser nuevamente lavadas nuevamente con abundante agua.

Se colocarán las muestras sobre una mesa, extendidas y frente a una corriente de aire directa para facilitar el secado de las muestras por 24 horas, luego de transcurrido este tiempo se colocaron en una estufa por 8 horas para su secado completo, luego de procedimiento se retiraron los tallos de las hojas y se procedió a triturar manualmente las hojas.

#### 2.5.3. Preparación del extracto etanólico de moringa:

Se pesó 800 gr. de hojas secas y trituradas, las que se llevaron a un molinillo de cuchillas para su pulverización completa, y luego se pasó por el tamiz ASTM Nro. 30.

El pulverizado obtenido se colocó en un frasco de vidrio ámbar de 2.5 litros de capacidad y agregó 1600 ml de etanol de 96°, luego se dejó macerar por 10 días, mezclando cada 8 horas la muestra con agitación constante por 5 minutos.

Trascurrido ese tiempo se filtró y llevó a estufa a 45°C hasta su evaporación completa, el residuo obtenido se considera el extracto etanólico de moringa, a partir de este extracto se elaboraron las concentraciones del 100% y 50% de la muestra de hojas de moringa.

#### 2.5.4. Preparación del aceite esencial de moringa:

Las semillas obtenidas fueron lavadas desinfectadas con lejía al 1% y luego secadas de la misma manera a corriente de aire, posteriormente se instaló el equipo de prensado en frío para proceder con la obtención del aceite.

Se colocaron las semillas en la tolva del equipo y se encendió el motor de la prensa, se verificó que el eje de prensa gire en sentido horario, el aceite recolectado en la parte inferior del eje fue colado antes de caer en el recipiente.

Una vez obtenido el aceite, este fue centrifugado por 8 minutos a 3000 rpm, obteniendo el aceite de semillas de moringa al 100%, a partir de este se diluyó al 50% con etanol de 96°.

#### 2.5.5. Determinación de la solubilidad del aceite de moringa

Se colocó 1 ml de aceite de moringa en 6 tubos de ensayo de 10ml a los cuales se le agregó por separado 1 ml de los solventes eter, acetona, metanol, etanol, agua y cloroformo y se determinó la solubilidad en ellos de la siguiente manera: soluble (++) , medianamente soluble (+) e insoluble (-)

#### 2.5.6. Determinación del índice de refracción del aceite de moringa

Se calibro el equipo refractómetro Abbe XT-3245, luego se procedió a estabilizar la temperatura a 25°C comprobando la lectura en el termómetro digital y se procedió a colocar 0,5ml del aceite en el prisma de refracción, se bajó el prisma de iluminación y oriento hacia una fuente de luz.

Se realizó la lectura observando a través del ocular, para lo cual se hizo coincidir a la mitad los dos campos (blanco y negro) manipulando el mando, como se observa en la figura siguiente, registrando la lectura mostrada en el panel en la parte inferior.



Figura 1. Campo oscuro y blanco del microscopio Abbe

#### 2.5.7. Reactivación de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231

Se realizó la reactivación de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 la cual fue identificada y demostrada mediante certificado de análisis de la cepa como se muestra en el anexo E, se realizó la reactivación de esta según los procedimientos descritos con la información técnica del catálogo de la empresa comercializadora de la cepa, manteniéndose en agar TSA para posteriormente preparar las diluciones a ensayar al 0.5 en la escala de McFarland.

#### 2.5.8. Evaluación de actividad antimicótica de moringa:

- Se realizó un sembrado en estrías en TSA, en todas las placas a ensayar.
- Se perforaron con un sacabocado 4 pozos en la placa con agar con un diámetro de 6 mm y se procedió de la siguiente manera:
  - En una placa se colocó en 1 pozo, 20 ul de alcohol etílico 96% (control negativo), en otros dos pozos se colocó 20 ul del extracto etanólico (grupo experimental) al 50 % y 100%, y finalmente en otro pozo se colocó 20 ul de nistatina (control positivo) a la concentración de 50 mg/mL.
  - De la misma manera se procedió con la preparación para las muestras de aceite esencial (grupo experimental) al 50 % y 100%.
  - Se realizaron en total 30 repeticiones por tratamiento experimental y control.
- Luego se llevaron a incubación por 24 horas a 37°C, una vez transcurrido este periodo de tiempo se retiraron de la incubadora y procedió a medir con un vernier digital el tamaño de los halos de inhibición formados, los datos fueron registrados en la ficha de recolección de datos (anexo B).
- Para la valoración de la sensibilidad antimicótica también se empleó la escala de McFarland mediante la comparación de los halos de inhibición (anexo F).

#### 2.6. Métodos de análisis estadísticos

El análisis estadístico de la presente investigación buscará analizar los datos para obtener mediante pruebas de normalidad e inferenciales la aceptación

o rechazo de la hipótesis alterna, en ese sentido se ha escogido la prueba de Anova y Tukey con un alfa de 0,05.

## 2.7 Aspectos éticos

Se tomará en consideración el Principio de no Maleficencia, durante el desarrollo de la tesis se tendrá extremo cuidado en no contaminar el medio ambiente, no causar daño a los participantes, en ese sentido, se cumplirá con lo establecido en las guías de manuales de bioseguridad y de manejo de residuo sólido.<sup>23,24</sup>

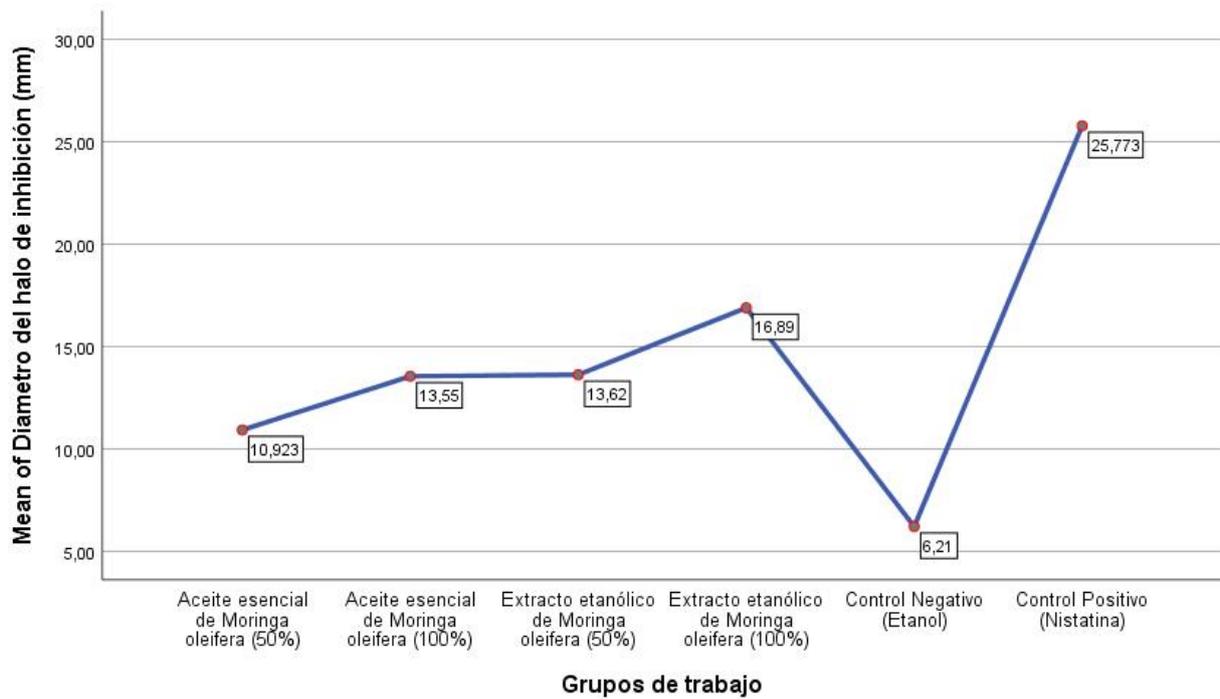
### III. RESULTADOS

Tabla 1. Análisis de los datos para los grupos experimentales y control sobre *Candida albicans*:

Grupos	N	Media	Std. Desviación	Std. Error	95% Intervalo de confianza de la media		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i> (50%)	30	10,92	0,39	0,07	10,78	11,07	10,00	11,90
Aceite esencial de <i>Moringa oleífera</i> (100%)	30	13,55	0,36	0,07	13,42	13,68	12,80	14,50
Extracto etanólico de <i>Moringa oleífera</i> (50%)	30	13,62	0,35	0,06	13,49	13,75	12,70	14,10
Extracto etanólico de <i>Moringa oleífera</i> (100%)	30	16,89	0,35	0,06	16,76	17,02	16,30	17,80
Control Negativo (Etanol)	30	6,21	0,19	0,04	6,14	6,28	6,00	6,60
Control Positivo (Nistatina)	30	25,77	0,36	0,07	25,64	25,91	25,20	26,70

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 1 muestra el análisis estadístico realizados a los datos de los grupos experimentales tratados con aceite esencial y extracto etanólico de *Moringa oleífera* y grupos control tratados con etanol (negativo) y nistatina (positivo), se muestran los parámetros estadísticos descriptivos de media, desviación estándar, error estándar, los intervalos de confianza inferior y superior, el valor máximo y mínimo encontrado con un nivel de confianza del 95%. El valor promedio con respecto al tamaño del halo de inhibición obtenido para el aceite de *Moringa oleífera* es de 10,92mm  $\pm$  0,39 y 13,55mm  $\pm$  0,36 para el 50% y 100% respectivamente, del mismo modo para el extracto etanólico de *Moringa oleífera* al 50% y 100% es de 13,62mm  $\pm$  0,35 y 16,89mm  $\pm$  0,35 respectivamente, el control negativo obtuvo un halo promedio de 6,21mm  $\pm$  0,19 y el control positivo de 25,77mm  $\pm$  0,36.



Fuente: SPSS ver. 26

Figura 2. Gráfico de medias de los grupos de tratamientos

La figura 1 muestra los valores obtenidos de las medias de los halos de inhibición para cada grupo de tratamientos, se observa una relación dependiente concentración de los tratamientos con respecto al tamaño del halo de inhibición observado, así mismo, se muestra un efecto superior en el extracto etanólico de Moringa oleífera sobre el aceite de la misma, o se aprecia un tratamiento similar al grupo control negativo o positivo.

Tabla 2. Análisis de la distribución normal para cada grupo de tratamientos

	Grupo de tratamientos	Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>		
		Statistic	df	Sig.
Diámetro del halo de inhibición (mm)	Aceite esencial de Moringa oleifera (50%)	0,12	30,00	0,200*
	Aceite esencial de Moringa oleifera (100%)	0,11	30,00	0,200*
	Extracto etanólico de Moringa oleifera (50%)	0,10	30,00	0,200*
	Extracto etanólico de Moringa oleifera (100%)	0,13	30,00	0,200*
	Control Negativo (Etanol)	0,22	30,00	0,00
	Control Positivo (Nistatina)	0,17	30,00	0,23

\*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 2 muestra el análisis de la distribución normal realizado a los datos de cada grupo de tratamientos mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, con un nivel de significancia alfa = 0.05, se observa distribución normal en todos los grupos de tratamiento los cuales presentan un valor de significancia superior al 0,05, excepto en el grupo de tratamientos del control negativo con significancia menor al 0.05. Por lo tanto, se demostró distribución normal en la mayoría de los grupos de tratamientos empleados.

Tabla 3. Análisis de la homogeneidad de varianzas

		Levene			p-
		Statistic	df1	df2	valor
<b>Diámetro del halo de inhibición</b>	Basado en la media	1,509	5	174	0,189
	Basado en la mediana	1,423	5	174	0,218
	Basado en la media y ajustado con df	1,423	5	154,18	0,219
		1,570	5	174	0,171
	Basado en la media recortada				

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 3, se muestra el análisis del supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba estadística de Levene, esta prueba confirma luego del análisis realizado al presentar un valor  $p=0,189$  superior al nivel de significancia alfa de 0,05 que los grupos de datos analizados presentan varianza similar, por lo tanto, se rechaza la hipótesis alterna y acepta la hipótesis nula que confirma la homogeneidad de las varianzas.

Tabla 4. Análisis de la varianza (ANOVA) de los grupos de tratamientos

Diámetro del halo de inhibición					
	Suma de cuadrados	df	Media al cuadrado	F	p-valor.
Entre grupos	6479,81	5,00	1295,96	11213,56	0,00
Dentro de los grupos	20,11	174,00	0,12		
Total	6499,91	179,00			

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 4 se muestra el análisis de la varianza o prueba de ANOVA para los grupos de tratamientos y grupo control excepto el grupo control el cual se excluyó de dicho análisis por no presentar parámetros compatibles con el estudio paramétrico. El p-valor obtenido mediante la prueba de ANOVA presenta un p-valor = 0,001 menor al nivel de significancia (0,05), lo que expresa que existe diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95% en al menos en uno de los grupos de datos analizados.

Tabla 5. Análisis de los datos de los grupos por medio de la prueba de Tukey por sub grupos homogéneos

	1	2	3	4	5
Control Negativo (Etanol)	30	6,21			
Aceite esencial de Moringa oleifera (50%)	30		10,92		
Aceite esencial de Moringa oleifera (100%)	30		13,55		
Extracto etanólico de Moringa oleifera (50%)	30		13,62		
Extracto etanólico de Moringa oleifera (100%)	30			16,89	
Control Positivo (Nistatina)	30				25,77

Fuente: SPSS ver. 26

La tabla 5 muestra la comparación de las medias individuos de cada grupo de tratamiento mediante la prueba de Tukey por subgrupo homogéneos, nos permite determinar luego de la prueba de ANOVA cuál de las medias presenta diferencia estadísticamente significativa comparando la media de cada grupo de datos. Se observa que las medias los datos de todos los tratamientos analizados presentan diferencia significativa entre sí, exceptuando los tratamientos con aceite esencial de *Moringa oleífera* al 100% y el extracto etanólico de *Moringa oleífera* al 50%, los que no presentan diferencia significativa entre sus medias.

Tabla 6. Valoración de la actividad antimicótica de *Moringa oleifera* según escala de Duraffourd

Tratamiento	Sensibilidad nula $\leq 8$ mm	Sensible 9–14 mm	Muy sensible 15-19 mm	Sumamente sensible $\geq 20$ mm
Aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i> (50%)		10,92		
Aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i> (100%)		13,55		
Extracto etanólico de <i>Moringa oleifera</i> (50%)		13,62		
Extracto etanólico de <i>Moringa oleifera</i> (100%)			16,89	
Control Negativo (Etanol)	6,21			
Control Positivo (Nistatina)				25,77

En la tabla 6, se observa el análisis de la actividad antimicótica contra *Candida albicans* de los tratamientos a base de aceite esencial de semilla y extracto etanólico de hojas de *Moringa oleifera* a las concentraciones del 50% y 100% y de los grupos control mediante la escala valorativa de sensibilidad antibacteriana de Duraffourd; se observa que *Candida albicans* es sensible al tratamiento con aceite esencial de semillas al 50% y 100% y extracto etanólico de hojas al 50%, así mismo, es muy sensible al extracto etanólico de hojas al 100%, es sumamente sensible a la nistatina y presenta sensibilidad nula al etanol.

Tabla 7. Pruebas de solubilidad el aceite de moringa

Muestra	Eter	Acetona	Metanol	Etanol	Agua	Cloroformo
1	++	+	-	-	-	++
2	++	+	-	-	-	++
3	++	+	-	-	-	++

Leyenda:

- (++) : Soluble
- (+) : Medianamente soluble
- (-) : Insoluble

Tabla 8. Determinación del índice de refracción del aceite

Repetición	Índice de refracción
1	1,5296
2	1,5108
3	1,5206
Promedio $\pm$ DS	1,5203 $\pm$ 0,009

## IV. DISCUSIÓN

### 4.1. Discusión

A partir de los hallazgos encontrados en los resultados aceptamos la hipótesis general del investigador, al confirmar que existe actividad antimicótica del aceite esencial de las semillas y del extracto etanólico de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" frente *Candida albicans*, a partir de este se han formulado los objetivos específicos.

Los resultados obtenidos con respecto a la actividad antimicótica frente a *Candida albicans* del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleífera* presentó halos de inhibición de  $10,92\text{mm} \pm 0,39$  y  $13,55\text{mm} \pm 0,36$  para el 50% y 100%, estos guardan relación con los resultados obtenidos por Rodríguez K. al comparar el efecto antibacteriano del aceite de las semillas moringa frente a *Escherichia coli* con gentamicina y nitrofurantoína, donde obtuvo halos de inhibición de  $14.5\text{mm} \pm 0,63$  a una concentración del 100%.

El estudio realizado por Guzman M. empleando el aceite de las hojas de *Moringa oleífera* frente *Candida albicans*, obtuvo halos de inhibición para el 100% de 9,58mm, para el 50% de 8,10mm y para el 25% de 4,78mm, estos resultados se presentan cercanos a los obtenidos en la presente investigación, sin embargo, la diferencias encontradas entre ambos estudios pueden explicarse por la parte de la planta empleada para la obtención del aceite, empleándose en este estudio las semillas de la planta y en el estudio de Guzmán M. las hojas, se sabe que la composición de los metabolitos es distinta según la parte de la planta empleada.

Con respecto a los resultados obtenidos por el extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* frente *Candida albicans* se observó halos de inhibición de  $13,62\text{mm} \pm 0,35$  y  $16,89\text{mm} \pm 0,35$  para el 50% y 100% respectivamente, estos resultados son respaldados por el estudio realizado por Moreno S., Valqui D., donde encontró efecto antimicrobiano del extracto etanólico de las semillas de *Moringa oleífera* a una concentración de 60mg/mL al exponerla a *Listeria monocytogenes*, a pesar de que el estudio no se realizó sobre el mismo microorganismos ni la misma parte de la planta, nos demuestra que los extractos etanólicos de la planta también

poseen poder antimicrobiano debido a su poder extractivo de principios activos, como lo demuestra nuestro estudio.

Así mismo, Chero V., comparó el efecto antibacteriano de los extractos hidroetanólico y acuoso de las hojas de *Moringa oleífera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668, se evidenció que las concentraciones del 76 mg/mL, 38 mg/mL del extracto obtuvieron halos de inhibición de 17.96mm y 15.27mm respectivamente, sin embargo, el extracto hidroalcohólico a la concentración de 19 mg/mL y los extractos acuosos no presentaron efecto antibacteriano sobre la bacteriana en estudio. El estudio de manera similar que el nuestro demuestra el efecto antimicrobiano de los extractos etanólicos de *Moringa oleífera* sobre diferentes microorganismos.

Un estudio similar realizado por Jarrin J. con el extracto hidroalcohólico de las hojas de *Moringa oleífera* a las concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% sobre *Candida albicans* obtuvo halos de inhibición para el 25% de 10.67mm  $\pm$  0,98, para el 50% de 16.17mm  $\pm$  1,03, para el 75% de 19.00mm  $\pm$  0,85 y para el 100% 22.25mm  $\pm$  1,13; estos resultados se muestran muy similares a los obtenidos en el estudio, sin embargo, existe ligeras diferencias que pueden estar relacionadas con la época de recolección de la muestra, sin embargo, de igual manera demuestra el efecto antimicótico de los extractos etanólicos de las hojas de *Moringa oleífera* sobre *Candida albicans*.

Por otro lado, Santos L., Silva P., Moura M., Carvalho A., Amorim P., Procopio T. et. al. también demuestra actividad anti *Candida* de la lectina de las semillas de *Moringa*, todo esto evidencia la importancia de esta planta como fuente para combatir muchos microorganismos, confirmando en este estudio su potencial efecto para combatir *Candida albicans*.

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante estadística descriptiva y pruebas de normalidad de Kolmogorov Smirnov y de Homogeneidad de Varianzas mediante la prueba de Levene, así mismo, se aplicó estadística inferencial paramétrica para determinar diferencias entre las medias de cada grupo de datos mediante la prueba ANOVA, finalmente se aplicó el análisis comparativo de todos los grupos mediante la prueba de Tukey, donde se llegó a determinar que existe diferencia significativas entre los grupos de tratamiento y los grupos control, lo que

demuestra el existencia de actividad antimicótica de los tratamientos al compararse con el control negativo, así mismo, se observa diferencias significativas entre todos los tratamientos excepto en el tratamiento a base de aceite de semilla de *Moringa oleífera* al 100% con el extracto etanólico al 50% de hojas de la misma planta, donde se demostró que presentan actividad similar al obtener valores promedio similares los halos de inhibición, por otro lado, ningún grupo de tratamiento demostró presentar actividad similar a la nistatina, presentando menor actividad que esta.

La actividad antibacteriana también se valoró mediante la escala de Duraffourd, la cual relaciona la sensibilidad que presenta un microorganismo cuando se expone a una sustancias mediante la el tamaño del halo de inhibición que se produce, siendo para el caso, que *Candida albicans* presento tener sensibilidad nula al etanol, ser sensible a los aceites de semilla al 50% y 100%, ser muy sensible al extracto etanólico de las hojas al 100% y ser sumamente sensible a la nistatina.

## 4.2. Conclusiones

- En esta investigación se demostró la actividad antimicótica del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" frente *Candida albicans*.
- Se determinó la actividad antimicótica del aceite esencial de *Moringa oleífera* "Moringa" frente *Candida albicans* mediante el método de difusión en pozo al obtener halos de inhibición de  $10,92\text{mm} \pm 0,39$  y  $13,55\text{mm} \pm 0,36$  para el 50% y 100% respectivamente.
- Se determinó la actividad antimicótica del extracto etanólico de las hojas de *Moringa oleífera* "Moringa" frente *Candida albicans* mediante el método de difusión en pozo al obtener halos de inhibición de  $13,62\text{mm} \pm 0,35$  y  $16,89\text{mm} \pm 0,35$  para el 50% y 100% respectivamente.
- El aceite esencial de semillas de *Moringa oleífera* "Moringa" presentó menor efecto antimicótico contra *Candida albicans* que el extracto etanólico de hojas, pero ambos, presentaron menor efecto que la Nistatina.

### 4.3 Recomendaciones

- El aceite esencial y extracto etanólico de *Moringa oleífera*, presentan propiedades potenciales en salud, por lo que se recomienda a futuras investigación profundizar estudios sobre esta planta muy conocidas en nuestra localidad.
- El uso de esta planta puede ser aplicado como tratamiento complementario o como uso alternativo en etapa inicial o de manera preventiva para micosis por *Candida albicans*.
- Se recomienda a la población el consumo inicial de alternativas naturales para el tratamiento de enfermedades leves, esto permitirá reducir los índices de resistencia de microorganismos que afectan al ser humano.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zurita J. Infecciones micóticas: esas enfermedades relegadas de la salud pública. *Bionatura*. 2017;2(3):344-7.
2. Conejo A., Martinez A., Ramirez O., Alvez F., Hernandez A. BF et al. Documento de consenso micóticas de manejo ambulatorio . Parte 2 †. *Rev Latinoam Infectol y Pediatrai*. 2017;139-45.
3. Mejia M., Santa C., Cadavid M., Velez L CL et al. Estudio etiológico y epidemiológico de las micosis cutáneas en un laboratorio de referencia – Antioquia – Colombia. *Rev CES Med*. 2017;27(1):7-19.
4. Sanchez J., Gonzales L. RK y MG. Prevalencia de *Candida albicans* y su relación con cambios en el pH vaginal [Internet]. *ScienceDirect*. 2017 [citado 14 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405887117300056>
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. *Odontol Act Rev Científica*. 2020;5(3):1-6.
6. Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID) - MINSA. Informe ETES-DAUM-DIGEMID / MINSA. 2015.
7. Doménech G. DA y V y RG. *Moringa oleifera*: Revisión sobre aplicaciones y usos en alimentos [Internet]. *Archivos Latinoamericanos de Nutricion*. 2017 [citado 20 de abril de 2021]. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222017000200003&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S0004-06222017000200003&script=sci_arttext&tlng=en)
8. Vergara M. MM y FM. Bioactive components in *Moringa oleifera* leaves protect against chronic disease. *Antioxidants*. 2017;6(4):1-13.
9. Batista E., Fonseca N., Alves J., Bezerra M. LF y DSE. Effect of oil extraction on the composition, structure, and coagulant effect of *Moringa oleifera* seeds. *J Clean Prod*. 10 de enero de 2021;279:123902.

10. Kou X., Li B., Olayanju J. DJ y CN. Nutraceutical or pharmacological potential of *Moringa oleifera* Lam. *Nutrients*. 2018;10(3).
11. Kuklinski C. *Farmacognosia: «Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural»*. Barcelona - España: Ediciones Omega S.A.; 2010. 400 p.
12. Carolus H, Van Dyck K, Van Dijck P. *Candida albicans* and *Staphylococcus* Species: A Threatening Twosome. *Front Microbiol* [Internet]. 18 de septiembre de 2019 [citado 17 de abril de 2021];10:2162. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.02162/full>
13. Cruz S., Diaz P. et al. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. *Red Rev Científicas América Lat el Caribe, España y Port*. 2017;33(3):26.
14. Perez A., Rojas J., Rodriguez J., Doncel A. Al yy AJ et al. Evaluación de métodos para medir la actividad inhibitoria de extractos vegetales nativos del departamento de sucre sobre bacterias y levadura patógenas. *Rev Colomb Cienc Anim - RECIA*. 2015;3(1):90.
15. D. MS y V. Efecto del extracto etanolico de *Moringa oleifera* sobre la supervivencia de *Listeria monocytogenes* ATCC 199115 in vitro. Universidad Nacional de Trujillo. 2019.
16. Rodriguez K. Comparacion del efecto antimicrobiano in vitro del aceite esencial de las semillas de *Moringa oleifera* frente a Gentamicina y Nitrofurantoina, sobre *Escherichia coli* ATCC 35218, Tacna -2017. 2018.
17. Villalobos JS. Comparacion del efecto antibacteriano in vitro del extracto acuoso e hidroetanolico de hojas de *Moringa oleifera* sobre *Streptococcus mutans* ATCC 35668 [Internet]. Repositorio de la Universidad Señor de Sipan. 2018. Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2216%0Ahttp://www.scielo.br/pdf/ean/v13n2/v13n2a08.pdf>. 2009 abr-jun; 13(2).
18. Santos L., Silva P., Moura M., Carvalho A., Amorim P. PT et al. Anti-*Candida* activity of the water-soluble lectin from *Moringa oleifera* seeds (WSMoL). *J Mycol Med*. 2 de noviembre de 2020;101074.

19. Guzmán M. Efecto antifúngico del aceite esencial de Moringa oleífera Lam al 25, 50, 100 % frente a la *Cándida albicans* estudio in vitro. Vol. 151, Universidad Central del Ecuador. 2018.
20. Jarrin J. Actividad antifungica del extracto hidroalcoholico de hojas de Moringa oleífera al 25%, 50%, 75% y 100% sobre cepas de *Candida albicans*. Estudio in vitro. 2018.
21. Gilman, Goodman. Terapéutica, Las bases farmacológicas de la Terapéutica. 12ed ed. Laurence L B, editor. Laurence Brunton. México: McGraw-Hill/Interamericana; 2014.
22. Maye B, Miguel G. El antibiograma de discos. Normalizacion de la Técnica de Kirby-Bauer. *Biomedica*. 2018;35(1):103-9.
23. Zurita S. Urcia F. Manual De Procedimientos Técnicos Para El Diagnóstico Micológico [Internet]. 2017. 139 p. Disponible en: [https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual de procedimientos tecnicos para el diagnostico micologico.final.pdf?sequence=1](https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/915/Manual_de_procedimientos_tecnicos_para_el_diagnostico_micologico.final.pdf?sequence=1)
24. Weldefort AA De, Fernández SEC. Manejo de Residuos Peligrosos/Biomédicos en los Laboratorios de Diagnóstico Universitarios. PAHO. 2016;
25. José J, García L. Moringa oleífera Lam.: Biología, Botánica, Propiedades Nutricionales y Medicinales. 2016; Disponible en: <https://idus.us.es/xmlui/handle//11441/80558%0Ahttp://www.ecoagricultor.com/2012/08/propiedades-nutricionales-y-medicinales-de-la-pina/>

## **ANEXOS**

## Anexo A: Matriz de Consistencia

Título: ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA DEL ACEITE ESENCIAL DE SEMILLAS Y EXTRACTO ETANÓLICO DE HOJAS DE *Moringa oleifera* "MORINGA" FRENTE A *Candida albicans*

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Cuál será la actividad antimicótica del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" frente <i>Candida albicans</i> ?</p> <p><b>Problemas Específicos</b></p> <p>¿Cuál será la actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" al 100% y 50% frente <i>Candida albicans</i>?</p> <p>¿Cuál será la actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa"</p>	<p>Demostrar la actividad antimicótica del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" frente <i>Candida albicans</i></p> <p><b>Objetivos Específicos</b></p> <p>Determinar la actividad antimicótica del aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" al 100% y 50% frente <i>Candida albicans</i></p> <p>Determinar la actividad antimicótica del extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i></p>	<p>El aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" presentan actividad antimicótica frente <i>Candida albicans</i></p> <p><b>Hipótesis Específicas</b></p> <p>El aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" al 100% y 50% presenta actividad antimicótica del frente <i>Candida albicans</i></p> <p>El extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa" 100% y 50% presenta actividad</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b></p> <p>Enfoque: Cuantitativo</p> <p><b>Nivel de Investigación:</b></p> <p>Investigación explicativa</p>	<p><b>Método de Investigación:</b></p> <p>Inductivo</p> <p><b>Diseño de Investigación:</b></p> <p>Experimental</p>	<p><b>Variable Independiente (x)</b></p> <p>X1: Aceite esencial de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa"</p> <p>X2: Extracto etanólico de <i>Moringa oleifera</i> "Moringa"</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p><b>x1:</b> Concentración (Porcentaje)</p>	<p><b>Población:</b></p> <p><i>Moringa oleifera</i> "Moringa" recolectada la zona del distrito de Chiclayo</p> <p><b>Muestra:</b></p> <p>Hojas y semillas de <i>Moringa</i></p>

<p>100% y 50% frente <i>Candida albicans</i>?</p> <p>¿Cuál será la actividad antimicótica comparada del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleífera</i> "Moringa" con Nistatina frente <i>Candida albicans</i>?</p>	<p>"Moringa" 100% y 50% frente <i>Candida albicans</i></p> <p>Comparar la actividad antimicótica del aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleífera</i> "Moringa" con Nistatina frente <i>Candida albicans</i></p>	<p>antimicótica frente <i>Candida albicans</i></p> <p>El aceite esencial de semillas y extracto etanólico de hojas de <i>Moringa oleífera</i> "Moringa" presenta similar actividad antimicótica con Nistatina frente <i>Candida albicans</i></p>			<p><b>Variable Dependiente (y)</b></p> <p><b>Y<sub>1</sub>:</b> Actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i></p> <p>Indicadores:</p> <p>≤ 8mm 8mm a 14mm 15mm a 20mm &gt; a 20mm</p>	
--	--	--	--	--	---	--

**Anexo B. Ficha de registro de datos de los diámetros del halo de Inhibición  
 producidos sobre *Candida albicans*  
*Moringa oleifera***

Placa	Extracto Etanólico		Controles		Aceite esencial	
	50% (mm)	100% (mm)	Negativo (mm)	Positivo (mm)	50% (mm)	100% (mm)
1						
2						
3						
4						
5						
6						
7						
8						
9						
10						
11						
12						
13						
14						
15						
16						
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23						
24						
25						
26						
27						
28						
29						
30						

### Anexo C : Operacionalización de variables

<b>VARIABLE INDEPENDIENTE</b>	<b>DIMENSIONES</b>	<b>TIPO</b>	<b>ESCALA</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE</b>
Aceite esencial de Moringa oleífera "Moringa"	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				50%	
Extracto etanólico de hojas de Moringa oleífera "Moringa"	Concentración	Cuantitativo	Ordinal	100%	Porcentaje
				50%	
<b>VARIABLE DEPENDIENTE</b>	<b>DIMENSIONES</b>	<b>TIPO</b>	<b>ESCALA</b>	<b>INDICADORES</b>	<b>UNIDAD DE MEDIDA/PUNTO DE CORTE</b>
Actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i>	Halo de inhibición	Cuantitativo	Ordinal	$\leq 8\text{mm}$ 8mm a 14mm 15mm a 20mm > a 20mm	Nula Sensible Medio Muy sensible

## Anexo D. Identificación taxonómica de la planta

**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 "MORINGA" proporcionada por los Bachilleres, **INGRID MARGOT ZEÑA GONZALES** y **JORGE LUIS DÍAZ UCHOFEN**, Tesistas de la Universidad "María Auxiliadora", ha sido estudiada científicamente y determinada como *Moringa oleifera* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: Plantae  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Dilleniidae  
Orden: Capparales  
Familia: Moringaceae  
Especie: *Moringa*  
Especie: *Moringa oleifera* Lam.

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

Lima, 07 abril 2021

  
Blgo. Hamilton Beltrán  
Hamilton Wilner Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
C.B.P. 2719

**Anexo E. Certificado ATCC de la cepa de *Candida albicans***



Certificate of Analysis: Lyophilized Microorganism Specification and Performance Upon Release

<b>Specifications</b> Microorganism Name: <i>Candida albicans</i> Catalog Number: 0443 Lot Number: 443-1008** Reference Number: ATCC® 10231™* Purity: Pure Passage from Reference: 3	Expiration Date: 2021/12/28 Release Information: Quality Control Technologist: Alexandra D Stensvad Release Date: 2019/3/18
--	--

<b>Performance</b>	
<b>Macroscopic Features:</b> Small to medium, white, circular, convex, dull colonies. <b>Microscopic Features:</b> Gram positive, ovoidal, budding yeast cells.	<b>Medium:</b> Nutrient <b>Method:</b> Gram Stain (1)
<b>ID System: MALDI-TOF (1)</b> See attached ID System results document.	<b>Other Features/ Challenges: Results</b> (1) Germ Tube Test: positive (1) Chlamyospore production: positive   Amanda Kuperus Quality Control Manager AUTHORIZED SIGNATURE

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

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

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

Individual products are traceable to a recognized culture collection.



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

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



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)	<b>High consistency:</b> 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)	<b>Low consistency:</b> 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)	<b>No consistency:</b> 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	<i>Candida albicans</i>	2.11

Comments:

n/a

## Anexo F. Escala de Duraffourd

Sensibilidad antibacteriana	Diámetro del halo e inhibición			
	-	+	++	+++
Nula	$\leq 8$ mm			
Sensible	9–14 mm			
Muy sensible	15-19 mm			
Sumamente sensible	$\geq 20$ mm			

Fuente: Elaborada por el investigador

## Anexo G. Evidencias del trabajo de campo

### 1. Recolección de las hojas y semillas de moringa



Figura 3. Recolección de la muestra vegetal

### 2. Lavado y desinfección de las hojas de moringa



Figura 4. Lavado y desinfección de la muestra vegetal

### 3. Pesaje de las muestras



Figura 5. Determinación del peso de la muestra vegetal

#### 4. Preparación de las hojas de moringa (secado y deshidratación)



Figura 6. Preparación de las hojas de moringa



Figura 7. Pulverización y tamizaje de las hojas de moringa



Figura 8. Pulverizado de hojas de moringa

## 5. Obtención y preparación de las semillas de moringa



Figura 9. Obtención, lavado y secado de las semillas de moringa

## 6. Preparación del extracto etanólico de moringa:



Figura 10. Maceración, filtrado y concentrado del extracto de hojas de moringa



Figura 11. Preparación de los extractos etanólicos de hojas de moringa a diferentes concentraciones

## 7. Obtención del aceite esencial de moringa:



Figura 12. Preparación del equipo de prensado en frío



Figura 13. Proceso de obtención del aceite de moringa por prensado en frío

## 8. Obtención de los extractos y aceite a diferentes concentraciones



Figura 14. Centrifugado y obtención de la muestras en estudio

## 9. Pruebas de solubilidad del aceite de moringa



Figura 15. Pruebas de solubilidad

## 10. Índice de refracción



Figura 16. Determinación del índice de refracción del aceite de moringa

## 11. Reactivación de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231

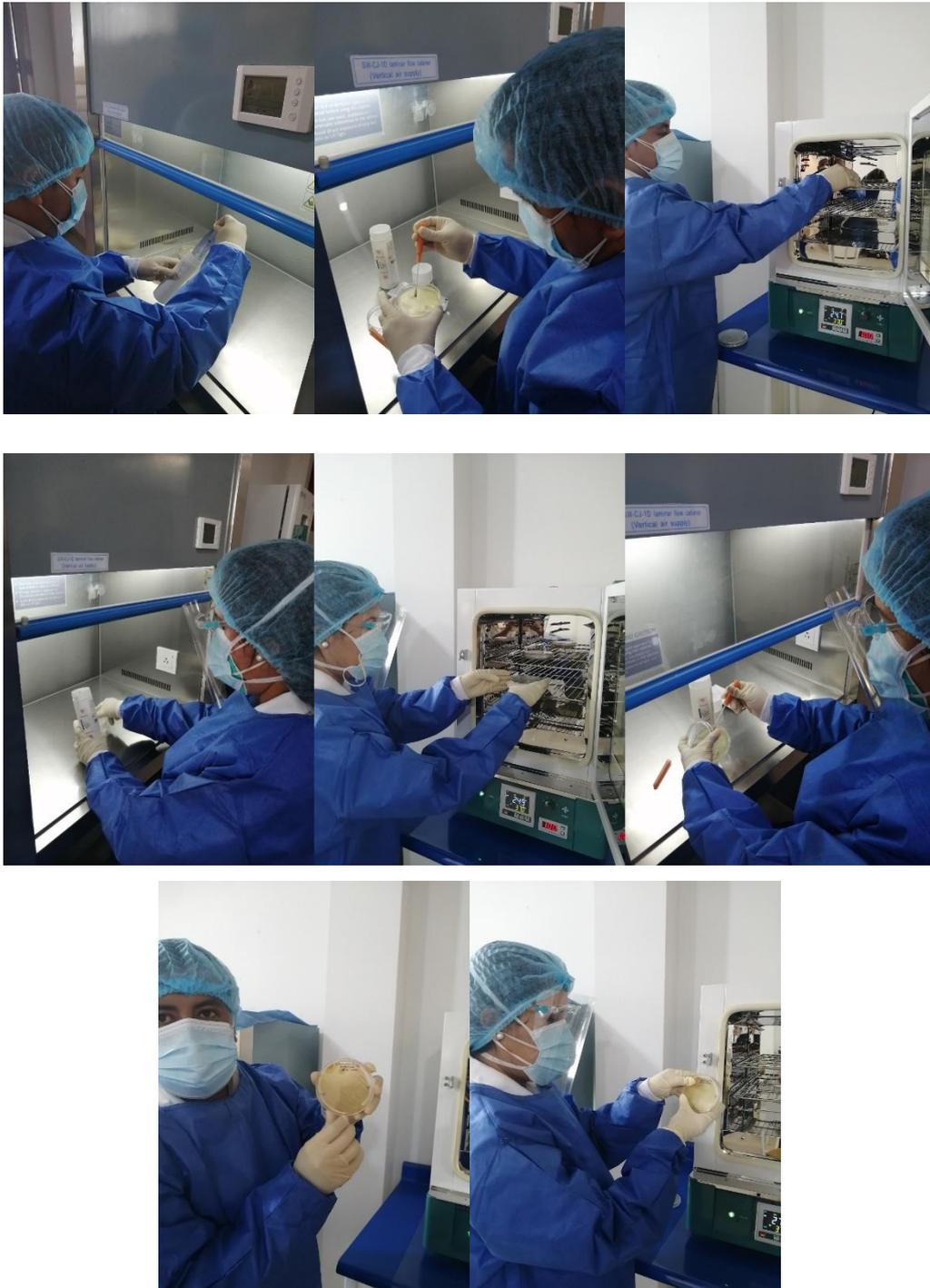


Figura 17. Proceso de activación de la cepa de *Candida albicans* ATCC 10231

## 12. Preparación del inóculo de trabajo y sembrado en placa

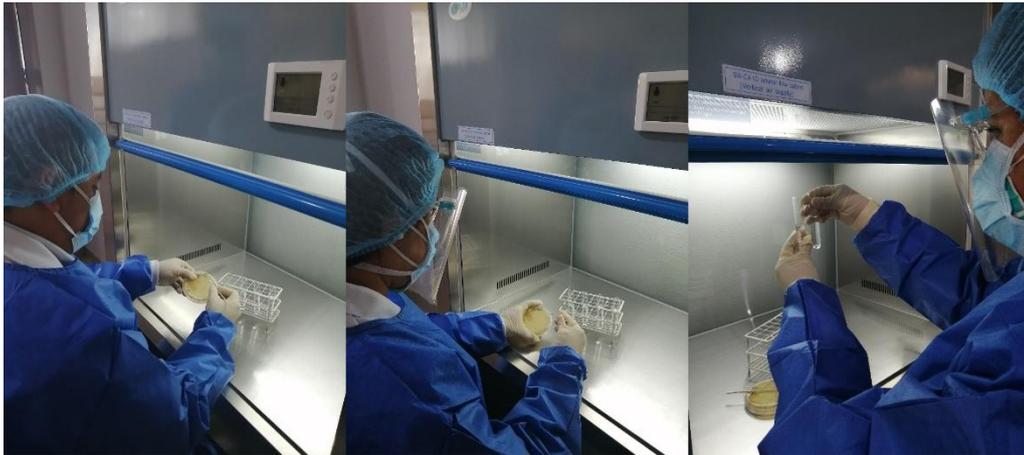


Figura 18. Preparación del inóculo de trabajo al 0.5 de McFarland



Figura 19. Sembrado en placa del inóculo

## 13. Preparación de los pocitos en placas

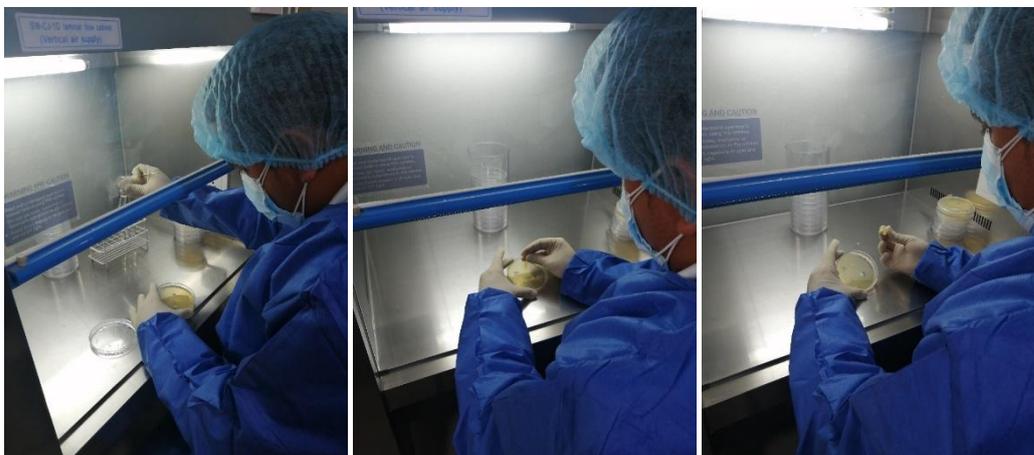


Figura 20. Preparación de los pocitos en placa petri

## 14. Aplicación de los extractos y aceite en placas

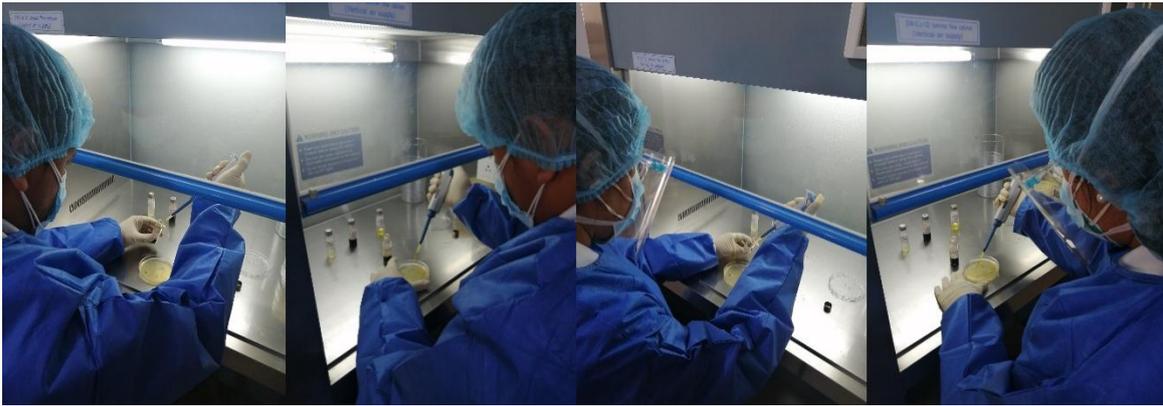


Figura 21. Aplicación de las muestras en estudio en los pozos



Figura 22. Incubación de las placas con *Candida albicans* y tratamientos

## 15. Lectura de los halos de inhibición



Figura 23. Medición del halo de inhibición