



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Farmacia y Bioquímica

Unidad de Posgrado

Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y actividad fotoprotectora *in vitro* en una emulsión dermocosmética

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Ciencias Farmacéuticas con mención en Ciencia y Tecnología Cosmética

AUTOR

Juan José PONCE COBOS

ASESOR

Dr. Américo Jorge CASTRO LUNA

Lima, Perú

2019



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

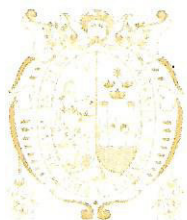
Referencia bibliográfica

Ponce J. Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y actividad fotoprotectora in vitro en una emulsión dermocosmética [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Unidad de Posgrado; 2019.

HOJA DE METADATOS COMPLEMENTARIOS

INFORMACIÓN GENERAL	
Título del Proyecto	Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth y actividad fotoprotectora <i>in vitro</i> en una emulsión dermocosmética.
Área de investigación (*)	Química Orgánica
Líneas de Investigación (*)	Plantas medicinales con potencial farmacéutico y productos naturales terapéuticos: (estudio fotoquímicos, estudios toxicológicos, estudios farmacológicos, procesos de su industrialización)
Ubicación geográfica donde se desarrolla la investigación (incluir localidades y/o coordenadas geográficas)	Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de Ingeniería- LABICER(Laboratorio de investigación y certificaciones)
Institución que financia si corresponde	Vicerrectorado de Investigación y Posgrado- UNMSM
Año o rango de años que abarcó	2018-2019
DATOS DEL TESISISTA	
Apellidos y Nombres	Ponce Cobos Juan José
Número de matrícula	07047077
Indicar si es egresado o si aún está cursando estudios, de ser así especificar el año de estudios	Egresado
Código ORCID (opcional)	0000-0003-4148-5668
DATOS DEL ASESOR I	
Apellidos y nombres	Castro Luna Américo Jorge
Código docente: Categoría: Principal Clase: Dedicación Exclusiva	
Máximo grado alcanzado	Doctor
Código ORCID (obligatorio)	0000-0001-8012-967X
Título profesional	Químico Farmacéutico
Departamento Académico al que pertenece	Química Básica y Aplicada
Instituto de Investigación al que pertenece	Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales
Grupo de investigación al que pertenece indicar si es coordinador, miembro o adherente del grupo de investigación	Coordinador del Grupo de Investigación - RENATU

(*) Según documentos oficiales de la Facultad



**ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OPTAR
AL GRADO ACADÉMICO DE MAGÍSTER EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS CON MENCIÓN EN CIENCIA Y
TECNOLOGÍA COSMÉTICA**

Siendo las 10:00 hrs. del 23 de diciembre de 2019 se reunieron en el auditorio de la Unidad de Posgrado de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el Jurado Evaluador de tesis, presidido por la Mg. Gloria Clotilde Gordillo Rocha e integrado por los siguientes miembros: Dr. Américo Jorge Castro Luna (Asesor), Mg. Oscar Herrera Calderon y Mg. Hugo Gilberto Villanueva Vilchez; para la sustentación oral y pública de la tesis intitulada: **"Composición química, actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y actividad fotoprotectora *in vitro* en una emulsión dermocosmética"**, presentado por el Bachiller en Farmacia y Bioquímica **JUAN JOSÉ PONCE COBOS**.

Acto seguido se procedió a la exposición de la tesis, con el fin de optar al Grado Académico de **Magíster en Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**. Formuladas las preguntas, éstas fueron absueltas por el graduando.

A continuación el Jurado Evaluador de tesis procedió a la calificación, la que dio como resultado el siguiente calificativo:

MUY BUENO Dieciocho (18)

Luego, la Presidenta del Jurado recomienda que la Facultad proponga que se le otorgue al Bachiller en Farmacia y Bioquímica **JUAN JOSÉ PONCE COBOS**, el Grado Académico de Magíster en **Ciencias Farmacéuticas con Mención en Ciencia y Tecnología Cosmética**.

Siendo las 11:40 hrs. se levanta la sesión.

Se extiende el acta en Lima, a las 11:50 hrs. del 23 de diciembre de 2019.

Mg. Gloria Clotilde Gordillo Rocha (P.P., T.C.)
Presidenta

Dr. Américo Jorge Castro Luna (P.P., D.E.)
Miembro - Asesor

Mg. Oscar Herrera Calderon (P. Aux., T.C.)
Miembro

Mg. Hugo Gilberto Villanueva Vilchez (P. P., T.P.)
Miembro

Observaciones:

DEDICATORIA

El presente trabajo es dedicado a:

A mis padres Juan y Carmela, por ser responsables de mi formación y de todo lo que he alcanzado en la vida, como ejemplo de superación.

A mis estimados hermanos: César, Carmen, Mercedes, María, Daniel, Jorge y Rossana; por haberme brindado su apoyo y cariño incondicional.

A mi compañera de vida Norma, por ser comprensiva en todo momento.

A mis hijos:

Juan José, Karina y Santiago;

Carlos Alberto y Andrea, por la felicidad que me brindan.

A Mario Alfredo que siempre lo tenemos presente.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme la vida y ser mi guía en todo momento.

Al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado de la UNMSM, por el financiamiento para la realización de la presente tesis.

A mi asesor Dr. Américo Castro Luna, por guiarme en la realización del trabajo de investigación.

Al Grupo de Investigación RENATU.

A los Miembros del Jurado: Mg. Gloria Gordillo Rocha, Mg. Oscar Herrera Calderón, Mg. Hugo Villanueva Vélchez, Dr. Américo Castro Luna, por sus importantes aportes al trabajo de investigación.

INDICE

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Aspecto botánico	6
2.2.1. Clasificación taxonómica	6
2.2.2. Descripción botánica	7
2.2.3. Descripción geográfica y habitat en el Perú	8
2.3. Propiedades medicinales del genero <i>Peperomia</i>	9
2.4 Aceites esenciales	10
2.4.1. Definición	10
2.4.2. Obtención de aceites esenciales	11
2.4.3 Principales componentes de los aceites esenciales	16
2.4.4. Identificación y cuantificación de compuestos químicos de los aceites esenciales	18
2.5. Antioxidantes y Oxidantes	20
2.5.1 Enfermedades y lesiones asociadas con radicales libres	21
2.5.2 Radicales libres	23
2.6 Radiación Ultravioleta y fotoprotección	25
2.6.1 Definición	25
2.7. Bacterias	27
2.7.1 <i>Staphylococcus aureus</i>	27
2.7.2 <i>Bacillus subtilis</i>	29
2.7.3 <i>Escherichia coli</i>	30
2.7.4 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	34

3.1. Materiales de laboratorio	34
3.2. Equipos	34
3.3. Reactivos	35
3.4. Procedimientos para la obtención del aceite esencial	36
3.4.1. Colecta e identificación del material biológico	36
3.4.2. Tratamiento de la muestra y rendimiento del aceite esencial	36
3.4.3. Prueba de miscibilidad del aceite esencial	36
3.4.4. Ensayos fisicoquímicos	37
3.5. Procedimientos analíticos-experimentales	37
3.5.1. Composición química del aceite esencial por Cromatografía de Gases	37
3.5.2. Capacidad antioxidante por el método del DPPH	39
3.5.3. Capacidad antioxidante por el método de ABTS ^{•+}	40
3.5.4. Evaluación de la actividad antibacteriana	41
3.5.5. Formulación de emulsiones	43
3.5.6. Evaluación de la actividad fotoprotectora	43
3.6. Análisis estadístico	44
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	45
4.1. Ensayos preliminares y fisicoquímicos	45
4.1.1. Rendimiento de la extracción del aceite esencial	45
4.1.2. Miscibilidad del aceite	45
4.1.3. Índice de refracción	46
4.1.4. Densidad relativa	46
4.2. Procedimientos analíticos-experimentales	46
4.2.1. Composición química del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunt por Cromatografía de Gases	46
4.2.2. Capacidad antioxidante total empleando el radical DPPH	52
4.2.3. Capacidad antioxidante total empleando el radical ABTS ^{•+}	54
4.2.4. Actividad antibacteriana	56
4.2.5. Características de la formulación	59
4.2.6. Evaluación de la actividad fotoprotectora	60
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	64

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	70
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES	71
CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	72
CAPÍTULO IX. ANEXOS	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth	45
Tabla 2. Prueba de miscibilidad del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth.	45
Tabla 3. Índice de refracción del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth a 20,1°C.	46
Tabla 4. Densidad relativa del aceite esencial <i>Peperomia galioides</i> Kunth a 15°C.	46
Tabla 5. Análisis por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas CG-MS, mediante inyección líquida	47
Tabla 6. Análisis por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas CG-MS, mediante inyección por Headspace.	50
Tabla 7. Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth “Congona”	51
Tabla 8. Capacidad antioxidante del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth por el método de DPPH.	52
Tabla 9. Capacidad antioxidante del estándar Trolox [®] por el método de DPPH	52
Tabla 10. Capacidad antioxidante del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth por el método de ABTS.	54
Tabla 11. Capacidad antioxidante del estándar Trolox [®] por método de ABTS.	54

Tabla 12. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth frente a cuatro microorganismos.	56
Tabla 13. Valores de inhibición de las diluciones del aceite de congona frente a las a las cepas <i>S.aureus ATCC25923</i> y <i>E.coli ATCC25922</i> .	57
Tabla 14. Valores de inhibición de las soluciones de las diluciones del aceite de congona frente a las a las cepas de <i>P.aeruginosa</i> y <i>S.epidermidis</i>	58
Tabla 15. Características organolépticas de las formulaciones elaboradas con el aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i>	59
Tabla 16. Determinación del pH de la base y formulaciones con el aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i>	59
Tabla 17. Evaluación de la actividad fotoprotectora de la base emulsiva.	60
Tabla 18. Capacidad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética de aceite de <i>Peperomia galioides</i> Kunth al 1%.	61
Tabla 19. Capacidad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética de aceite de <i>Peperomia galioides</i> Kunth al 3%.	62
Tabla 20. Capacidad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética de aceite de <i>Peperomia galioides</i> Kunth al 10%.	63

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Fotografía de la planta <i>Peperomia galioides</i> Kunth.	6
Figura 2.	Representación gráfica de <i>Peperomia galioides</i> Kunth.	7
Figura 3.	Distribución de <i>Peperomia galioides</i> Kunth	8
Figura 4.	Flujograma de destilación por vapor de agua.	12
Figura 5.	Flujograma de destilación por vapor de agua.	13
Figura 6.	Esquema de una Unidad de Fluidos Supercríticos	14
Figura 7.	Esquema de una Extracción asistida por microondas	15
Figura 8.	Patrón general de biosíntesis de metabolitos secundarios.	17
Figura 9.	Unidad estructural isopreno	18
Figura 10.	Detector de ionización a la llama	19
Figura 11.	Representación de un detector de espectrometría de masas	20
Figura 12.	Gráfica de dispersión del % inhibición del radical DPPH vs concentración de aceite esencial	53

Figura 13.	Gráfica de dispersión del % inhibición del radical DPPH vs las concentraciones del estándar Trolox®.	53
Figura 14.	Gráfica de dispersión del % inhibición del radical ABTS vs concentración de aceite esencial	55
Figura 15.	Gráfica de dispersión entre el estándar Trolox® versus % de inhibición del radical ABTS ^{•+}	55
Figura 16.	CMI del aceite esencial de <i>Peperomia galioides</i> Kunth frente a cuatro microorganismos	56
Figura 17.	Resultados de ensayos de inhibición con soluciones a diferentes concentraciones (50-100-200 uL/mL) A) <i>E.coli</i> con aceite de congona diluido en DMSO B) <i>S.aureus</i> con aceite de congona diluido en DMSO	57
Figura 18.	Resultados de ensayos de inhibición con soluciones a diferentes concentraciones (50-100-200 uL/mL). A) <i>S. epidermidis</i> con aceite de congona diluido en DMSO. B) <i>P. aureginosa</i> con aceite de congona diluido en DMSO.	58

GLOSARIO DE TÉRMINOS

DPPH:	Radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo
ABTS^{•+}:	Ácido 2,2'-azinobis (3- etilbenzotiazolín)-6-Sulfónico
CG-MS:	Cromatografía de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas
CMI:	Concentración mínima inhibitoria
DMSO:	Dimetil sulfóxido
TEAC:	Capacidad antioxidante equivalente al Trolox
FPS:	Factor de protección solar
UVB:	Radiación Ultra-Violeta B
CG-FID:	Cromatografía de Gases acoplado a Ionización de Llama
EFS:	Extracción por Fluídos Supercríticos
EAM:	Extracción Asistida por Microondas
HD:	Hidrodestilación
HS:	Head-space
ROS:	Especies Reactivas de Oxígeno
UVA:	Radiación Ultra-Violeta A
UVC:	Radiación Ultravioleta C
IPF:	Factor de Protección Inmune
FDA:	Administración de Alimentos y Drogas
MDR:	Resistente a Múltiples Fármacos
MBL:	Métalo Beta Lactamasa
UV-VIS:	Radiación Ultravioleta Visible
CI 50:	Concentración Media Inhibitoria
TSA:	Agar Trypticase Soya
TSB:	Caldo Trypticase Soya
RL:	Radicales libres
O₂⁻:	Superóxido.
H₂O₂:	peróxido de hidrógeno.
OH⁻:	hidroxilo

Resumen

El objetivo fue evaluar la composición química, actividad antimicrobiana y actividad fotoprotectora UVB en emulsiones dermocosméticas del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. El aceite esencial se obtuvo mediante un sistema de destilación por arrastre de vapor con agua. El análisis de los componentes químicos se realizó por Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG/MS). La actividad antioxidante se realizó por los métodos DPPH y ABTS. La actividad antimicrobiana fue evaluada por el método de microdilución y difusión en agar. La actividad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética fue evaluada espectrofotométricamente en el rango UVB entre 290 a 320 nm. Se obtuvo un rendimiento de 0,235% v/p del aceite esencial; la muestra presentó 86 y 14 componentes químicos mediante inyección líquida y headspace, respectivamente. La capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) mediante el ensayo del radical DPPH fue 0,04196 µg Trolox/mg de aceite esencial. El TEAC mediante el ensayo de ABTS fue de 1,9213 µg Trolox/mg de aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona”. La actividad antimicrobiana del aceite esencial mediante microdilución frente a bacterias Gram negativa fue baja, sin embargo, fue efectiva frente a Gram positivos como *S. aureus* y *B. subtilis* con un CMI de 20 y 10 uL/mL respectivamente. Las emulsiones dermocosméticas al 1, 5 y 10 % presentaron valores de Factor de Protección Solar (FPS) menores a 1,3. En conclusión, el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth tiene moderada actividad antimicrobiana, baja actividad antioxidante en comparación al estándar Trolox y un nivel bajo de Protección Solar en las emulsiones dermocosméticas elaboradas.

Palabras clave: composición química; antioxidante; antimicrobiana; fotoprotector; *Peperomia galioides* Kunth, emulsiones dermocosméticas.

Abstract

The objective was to evaluate the chemical composition, antimicrobial activity and UVB photoprotective activity in dermocosmetic emulsions of the essential oil of *Peperomia galioides* Kunth. The essential oil is obtained by a steam distillation system with water. The analysis of the chemical components was performed by Gas Chromatography coupled to Mass Spectrometry (CG / MS). The antioxidant activity is performed by the DPPH and ABTS methods. The antimicrobial activity was controlled by the method of microdilution and diffusion in agar. The photoprotective activity of the dermocosmetic emulsion was spectrophotometrically affected in the UVB range between 290 to 320 nm. A yield of 0.235% v / p of the essential oil was obtained; The sample presented 86 and 14 chemical components by liquid injection and headspace, respectively. The antioxidant capacity equivalent to Trolox (TEAC) by the DPPH radical test was 0.04196 µg Trolox / mg essential oil. The TEAC by the ABTS test was 1.9213 µg Trolox / mg of *Peperomia galioides* Kunth essential oil "Congona". The antimicrobial activity of the essential oil by microdilution against Gram negative bacteria was low, however, it was effective against Gram positives such as *S. aureus* and *B. subtilis* with an MIC of 20 and 10 uL / mL respectively. Dermocosmetic emulsions at 1, 5 and 10% of Sun Protection Factor (SPF) values less than 1.3. In conclusion, the essential oil of *Peperomia galioides* Kunth has moderate antimicrobial activity, low antioxidant activity compared to the Trolox standard and a low level of Sun Protection in elaborated dermocosmetic emulsions.

Keywords: chemical composition; antioxidant; antimicrobial; photoprotector; *Peperomia galioides* Kunth, dermocosmetic emulsions.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Entre los doce países de mayor diversidad biológica del planeta está el Perú, a estos países se les conoce como megadiversos ya sea por sus recursos genéticos, como por la variedad de sus ecosistemas. Posee unas 25 000 especies de plantas conocidas, 17144 son especies con flores, de las cuales el 31 % se les considera especies endémicas porque su distribución se restringe a una determinada zona geográfica.

Con una detallada investigación se ha logrado conocer que unas 5000 plantas se emplean para 49 fines distintos, 782 especies tienen usos alimenticios, 1400 especies tienen usos medicinales, 1608 especies tienen usos ornamentales, para madera y construcción se usan 618 especies, para forraje se emplean 483 especies, para tintes y colorantes hay 134 especies, como tóxicas y venenosas se tienen 179 especies, para leña y carbón 132 especies, y para agroforestería se tienen 123 especies entre otros fines.

Las poblaciones rurales dependen de las plantas para alimentarse, curarse, construir, obtener energía y para otros fines. También las plantas usadas forman un rubro muy importante en la economía del país, así tenemos que el 65% de la agricultura nacional depende de las plantas nativas y un 95 % de la ganadería peruana depende de forrajes nativos.

Peperomia galioides Kunth, es una especie perteneciente a la familia Piperaceae, la cual está conformada por 14 géneros y 1 950 especies, extensamente distribuidos en muchos países de Asia y Sudamérica. Estudios químicos llevados a cabo en especies del género *Peperomia* han revelado la presencia de una variedad de compuestos como lignoides, polifenoles amidas insaturadas, alcaloides y aceites esenciales, y en investigaciones fitoquímicas se ha hallado la presencia de flavonoides, fitosteroles, estirenos sustituidos, terpenos, arylpropanoides y compuestos fenólicos.

El género *Peperomia* sigue siendo motivo de investigación como una fuente de nuevos productos naturales con potencial antibacteriano, anticancerígeno, citotóxico, antiinflamatorio y analgésico .

Por lo expuesto, consideramos de gran importancia desarrollar estudios de investigación del aceite esencial obtenido del tallo y hojas de la especie *Peperomia galioides* Kunth, planta nativa de la provincia de Pallasca, departamento de Ancash con el objeto de

determinar su composición química, así como su actividad antioxidante, actividad antibacteriana y su actividad fotoprotectora como componente en una emulsión dermocosmética.

Objetivo General

- Determinar la composición química, actividad antioxidante, y antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth y la actividad fotoprotectora de una emulsión dermocosmética.

Objetivos Específicos

- Identificar los componentes químicos volátiles del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.
- Evaluar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.
- Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth evidenciándose la formación de halos claros.
- Desarrollar una emulsión dermocosmética que contenga el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.
- Determinar la actividad fotoprotectora *in vitro* UVB de la emulsión dermocosmética con aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Existen diversos estudios realizados en especies vegetales que pueden considerarse antecedentes para la presente investigación y son los siguientes:

Di Leo Lira y colaboradores en el año 2007, analizaron la composición química del aceite esencial de las partes aéreas frescas y desecadas de dos tipos de *Peperomias* provenientes del Perú, *Peperomia galioides* H.B.K. y *Peperomia chahuapuyana* Trelease, utilizando un sistema de cromatografía de gases con detector de ionización de llama acoplado a un espectrómetro de masas (GC-FID/MS). Fueron identificados 72 compuestos en *Peperomia galioides* H.B.K., siendo el componente principal epi-alfa-bisabolol en la fracción fresca y seca de la muestra. En el caso de *Peperomia chahuapuyana*, se identificaron 42 componentes, siendo el mayoritario el sabineno en muestra seca y fresca, respectivamente ¹.

Asimismo, en otro estudio realizado en el aceite de hojas de la misma especie y analizadas por GC/MS, se identificaron 84 componentes químicos que constituían aproximadamente más del 99% del aceite, siendo los componentes mayoritarios el safrole (42,3%) y epi-alfa-bisabolol (29,2%) ².

Neto C. y colaboradores en el año 2002, investigaron extractos de ocho plantas medicinales del Callejón de Huaylas, entre ellas *Peperomia galioides* evaluando su actividad antibacteriana en extracto etanólico y la inhibición del crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas tales como *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus spp* y *Escherichia coli*.. Además, el extracto metanólico presentó inhibición al crecimiento de bacterias Gram positivas como, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* y *Streptococcus spp* ³.

En un estudio realizado en aceite esencial obtenido de hojas y tallos de *Peperomia galioides* H.B.K, por arrastre con vapor de agua y caracterizado CG/MS, se evidenció 66 componentes químicos, presentándose entre ellos monoterpenoides y sesquiterpenoides, entre los que destacan los hidrocarburos monoterpénicos (20,5%), monoterpenos oxigenados (1,7%), sesquiterpenos oxigenados (40,10%), sesquiterpenos (26,4%). La actividad antimicrobiana del aceite esencial fue ensayado en modelos *in vitro* para evaluar

su actividad frente a cuatro tipos de bacterias Gram positivas y cuatro Gram negativas. Se demostró una buena actividad antibacterial frente a las bacterias Gram positivas⁴.

La investigación realizada del extracto metanólico de hojas de *Peperomia pellucida* por CG/MS presentó al phytol (37,88%) como componente mayoritario, resaltando una actividad antioxidante moderada, evaluada mediante el método DPPH⁵.

Dávila en el año 2018, realizó la investigación titulada “Actividad fotoprotectora in vitro del aceite esencial de *Citrus medica* L. frente a la radiación UVB y elaboración de una emulsión dermocosmética”, con el objetivo de determinar el Factor de Protección Solar (FPS) mediante una técnica *in vitro*, para una emulsión dermocosmética que contenía aceite esencial de *Citrus medica* L. “toronja” a diversas concentraciones. El aceite esencial fue obtenido mediante un sistema de destilación por arrastre a vapor de agua, y posteriormente se formularon las emulsiones dermocosméticas. El factor de protección solar fue evaluado siguiendo la metodología propuesta por Mansur, reportando un valor máximo de FPS de 6,2⁶.

Un estudio realizado in vitro de la capacidad antioxidante en el extracto etanólico del fruto de *Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V. M. Badillo, se determinó la actividad fotoprotectora, teniendo como objetivo desarrollar una crema dermocosmética que contenga dicho extracto y evaluar las actividades antioxidantes y antienzimáticas del extracto. La crema presentó un limitado efecto fotoprotector en los ensayos *in vitro* frente a la radiación UVB⁷.

Al realizar el efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas de *Peperomia congona* sobre su actividad antimicrobiana, se tuvo como objetivo determinar la actividad antibacteriana, por el método de difusión en agar Kirby Bauer. Los resultados demostraron que el aceite esencial presenta actividad a concentraciones del 100; 50; 25 y 12,5 % contra las bacterias *Staphylococcus aureus* ATCC 29923 evidenciándose halos de inhibición con un promedio de 9,4mm; 9,33mm; 9,33mm y 9,33 mm y frente a *Salmonella entérica* sv enteritidis ATCC 13076 halos de 9.21mm, 9.21mm, 9.17mm y 9.15mm, respectivamente a la concentración. Concluyéndose que el aceite esencial a diferentes concentraciones presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Salmonella entérica* sv enteritidis ATCC 13076, atribuyéndole su actividad a la presencia del safrol y bisabolol⁸.

Flores Zurita, realizó una investigación en el año 2015, titulada: Actividad antibacteriana del extracto hidroalcohólico del Bellaco caspi (*Himathantus sucuuba*) y la congona (*Peperomia galioides*). El trabajo tuvo como objetivo determinar de manera *in vitro* la actividad antibacteriana de los extractos de la corteza de *Himatanthus sucuuba*, una especie nativa de la Amazonia peruana y hojas-tallos del *Peperomia galioides* proveniente de Huaraz frente una cepa clínica de *Staphylococcus aureus* provenientes del Hospital Essalud Angamos. Se preparó los extractos hidroalcohólicos al 25, 50, 75 y 100 % p/v y para evaluar la actividad se utilizó el método por difusión en discos Kirby – Bauer. Los resultados mostraron que los extractos hidroalcohólicos de las muestras tienen acción antimicrobiana frente de la cepa, se obtuvo halos de inhibición de crecimiento bacteriano con una mejor actividad al 100 % de concentración del extracto. Se concluye que la presencia de alcaloides en el extracto alcohólico de la corteza puede determinar la diferencia de diámetros de los halos en ambos extractos ⁹.

2.2. Aspecto botánico

2.2.1. Clasificación taxonómica



Figura 1. Fotografía de la planta *Peperomia galioides* Kunth.

Fuente El autor.

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnolipsida

Subclase: Magnoliidae

Orden: Piperales

Familia: Piperaceae

Género: *Peperomia*

Especie: *Peperomia galioides* Kunth

Nombre común: Congona, Tunacongona (Perú), Horchata (Ecuador)¹⁰.

2.2.2. Descripción botánica

Peperomia galioides Kunth, es una planta herbácea aromática, descrita originalmente en el continente sudamericano en la zona comprendida entre Colombia, Perú y Bolivia, aunque existen reportes de su crecimiento en regiones mexicanas. Se encuentra entre los 2600 a 4000 metros de altitud, se desarrolla en lugares húmedos y semisombreados. Según el medio donde se desarrolle, puede alcanzar una altura entre los 10 a 50 cm, tallo cilíndrico, con ramificaciones en la base y nudos inferiores, hojas verticiladas pecioladas de 8 por nudo, colgantes o insertadas perpendicularmente; obovada-oblongas de 0,8 a 1,2cm de largo, 5 a 6 mm de ancho y entre 1,5 a 2,5 mm de espesor. Su inflorescencia es en espigas hermafroditas sin perianto terminales en nudos de 1,3 a 3,8 cm de largo, ovario súpero unilocular, el fruto es una drupa con una semilla¹¹⁻¹². Popularmente es conocida por los pobladores como “tunacongona”, “congona hembra” o simplemente “congona”¹².

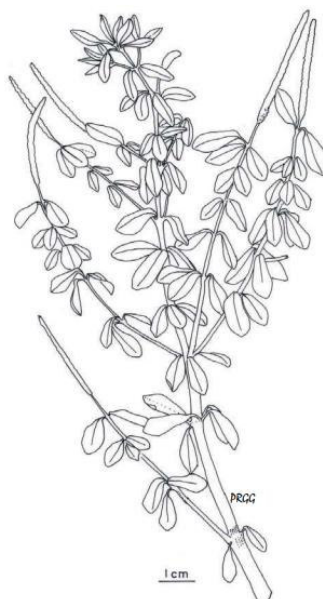


Figura 2. Representación gráfica de *Peperomia galioides* H.B.K.
“congona”¹¹

2.2.3. Descripción geográfica y hábitat en el Perú

Peperomia galioides Kunth es una planta nativa del Perú ubicada en ladera de los cerros entre los 500 a 4000 metros de altitud, en presencia de humedad, asociada a líquenes, musgos, helechos y bromeliáceas¹¹.

La especie se encuentra dsitribuida en los departamentos de Amazonas, Ancash, Arequipa, Ayacucho, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Huancavelica, Junín, La Libertad, Pasco, Piura y Puno¹³.

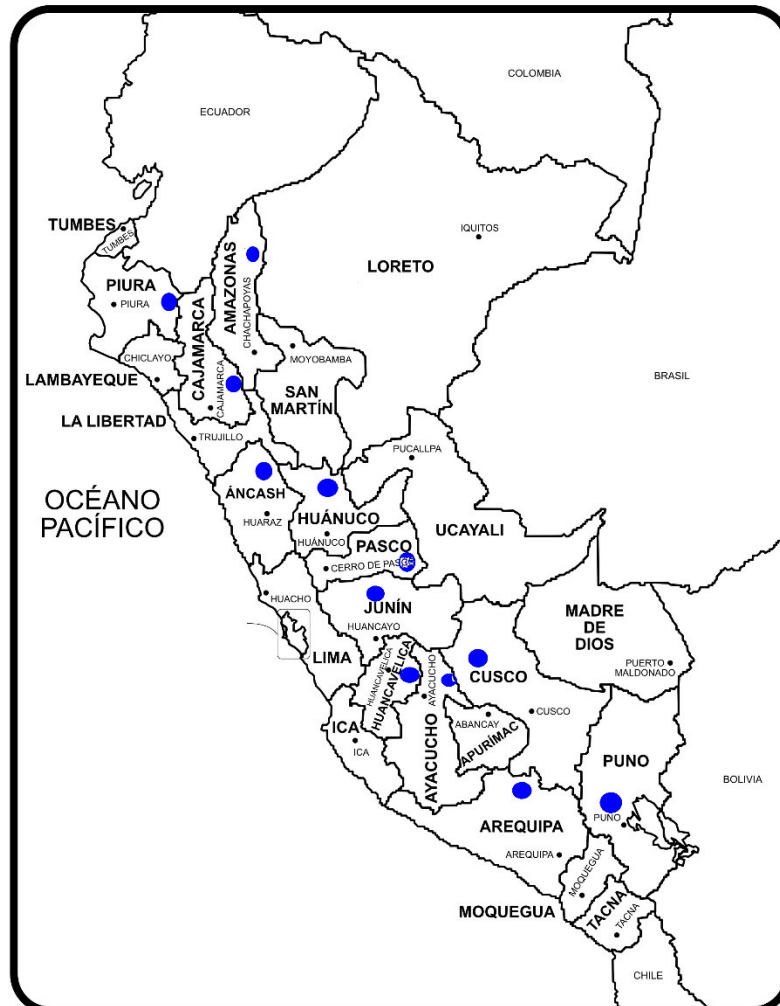


Figura 3. Distribución de *Peperomia galioides* Kunth

Fuente: Tomada de y modificada por el autor.

2.3 Propiedades medicinales del genero *Peperomia*

El género *Peperomia* y *Piper* son los géneros más grandes de angiospermas, específicamente el género *Peperomia* comprende alrededor de 1500 a 1700 especies, la mayoría son pequeñas epífitas perennes compactas y pesadas que crecen en bosques podridos. Son nativos de América Central y del Sur. Aunque la mayoría de las especies de *Peperomia* se usan principalmente como plantas ornamentales, algunas de ellas se usan en la medicina popular para tratar muchas enfermedades^{14,15}

Peperomia galioides H.B.K o *Peperomia galioides* Kunth localmente llamado "Sacha congona", "orq'ó congona", "congona", "congona macho o hembra", es una hierba suculenta en peligro de extinción muy utilizada en la medicina tradicional peruana. Crece a los lados de los árboles y entre arbustos espinosos con raíces muy superficiales¹⁶.

En una encuesta de medicina y plantas mágicas utilizadas en los Andes del norte del Perú se mencionó los usos populares de esta especie en diferentes formulaciones, por ejemplo, la decocción de las partes aéreas se usa como cicatrizante, mientras que la decocción de las hojas cumple la función de antiinflamatorio en dolores de oído, además, el jugo de hojas tiene propiedades descongestivas para las quemaduras, contra las hemorroides, caída del cabello y la infusión de hojas frescas es efectiva contra el escorbuto. En el cuzco, el jugo de las hojas se usa como antiespasmódico y analgésico en los dolores de oído con una dosis aproximada 2-3 gotas directamente aplicada en la oreja, y la planta molida se aplica en cortes y heridas externas mejorando la cicatrización. Otros usos reportados son en el tratamiento de úlceras gástricas, afecciones hepáticas, cardiotónicas, dolor por fractura ósea y cicatrización de heridas^{17,18}.

Posteriormente, se informó que el extracto de etanol de toda la planta tenía actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* y por fraccionamiento guiado por bioensayo se encontró a la grifolina y el ácido grifólico, como los compuestos activos¹⁹.

2.4 Aceites esenciales

2.4.1 Definición

Los organismos circunscritos al reino Plantae, tienen la capacidad de sintetizar aceites esenciales. Los aceites esenciales son mezclas de compuestos orgánicos volátiles atribuyéndole características como sabor y fragancia de una planta. Muchos de los componentes individuales que se encuentran en los aceites esenciales cumplen la función de mediadores en la comunicación de insectos, conocidos como "feromonas de insectos"²⁰.

Los aceites esenciales también se conocen como aceites volátiles. La palabra "esencial" se usa para reflejar la naturaleza intrínseca o la esencia de la planta, y "aceite" se usa para indicar un líquido que es insoluble e inmiscible con el agua, por lo cual los aceites esenciales son más solubles en solventes lipofílicos (no polares) como cloroformo, benceno, entre otros²¹.

Las plantas aromáticas y las infusiones preparadas a partir de ellas se han empleado como medicamentos y cosméticos durante miles de años. Se tiene información de las primeras destilaciones de aceites esenciales en el siglo X. Pero se desarrolló la destilación por Forbes en el año 1970. Las extracciones con disolventes, microondas, resinoides y los extractos de CO₂ (fluidos supercríticos), son metodologías recientes^{20,21}.

Las plantas productoras de aceites esenciales pertenecen a muchas especies diferentes y se encuentran alrededor del mundo, estimándose un aproximado de 350,000 especies y que el 5% (17,500 especies) son aromáticas. En la actualidad más de 400 se procesan comercialmente por sus materias primas y aproximadamente el 50% se cultivan y el resto se obtiene como subproductos de una industria primaria o se cosecha en la naturaleza²¹.

2.4.2 Obtención de aceites esenciales

2.4.2.1 Extracción por solventes

La extracción con solventes se puede usar para extraer aceites esenciales que son térmicamente lábiles, por ejemplo, aceites esenciales de flores. Durante este método, el material vegetal se coloca en un baño de disolventes que lo disuelve. Después de la extracción, la mezcla líquida que contiene el aceite esencial (junto con otros compuestos) pasa por un proceso de filtración y una destilación posterior. Los solventes que se utilizan comúnmente para la extracción son el alcohol, hexano, etanol, éter de petróleo y metanol. La principal ventaja de la extracción por solventes es que se utiliza una temperatura más baja durante el proceso, lo que reduce el riesgo de cambios químicos por las altas temperaturas, en comparación a los procesos de destilación. La extracción con solvente es económica y relativamente rápida debido a que las velocidades de difusión están influenciadas por la temperatura, por lo cual es posible aumentar la velocidad del proceso utilizando disolventes calientes. El aceite esencial producido contendrá una pequeña cantidad de disolvente como residuo por lo tanto, es recomendable que el residuo no sea tóxico (cloroformo, éter, benceno, entre otros). Sin embargo, si el solvente utilizado es alcohol, es seguro para el consumo y se considera de "grado alimenticio". Este método es comúnmente utilizado por la industria del perfume ²².

2.4.2.2 Destilación

El método de extracción más utilizado es la destilación por arrastre a vapor de agua y la hidrodestilación, diferenciados como destilación indirecta y directa, respectivamente. Los procesos de extracción por destilación pueden durar entre 1 a 10 horas y la cantidad de aceite esencial producido depende del tiempo de destilación, temperatura, presión y el tipo de material vegetal. Durante la destilación, los materiales vegetales están expuestos a ebullición del agua (hidrodestilación – destilación directa) o vapor (destilación por arrastre a vapor –

destilación indirecta) para liberar el aceite esencial dentro de ellos a través de la evaporación. El agua y el aceite esencial se evaporan, se condensan y luego se separan en un recipiente que generalmente es un embudo de decantación. Aunque la extracción de un aceite esencial por destilación parece ser un proceso sencillo, tiene muchos inconvenientes. Debido a que los aceites esenciales están expuestos al agua hirviendo durante largos períodos de tiempo, la degradación de los componentes es un posible problema debido a la elevada temperatura o la acidez del agua, pudiendo conducir diferencias en la composición de los aceites volátiles extraídos. Durante la destilación, la hidrólisis de ésteres a alcoholes y ácidos comúnmente cuando los aceites esenciales presentan elevadas cantidades de ésteres. Por otra parte, algunos aceites esenciales requieren rectificación, este proceso consiste en la redestilación del aceite para eliminar impurezas indeseables así como componentes que pueden impartir un olor inaceptable ^{23, 24}.

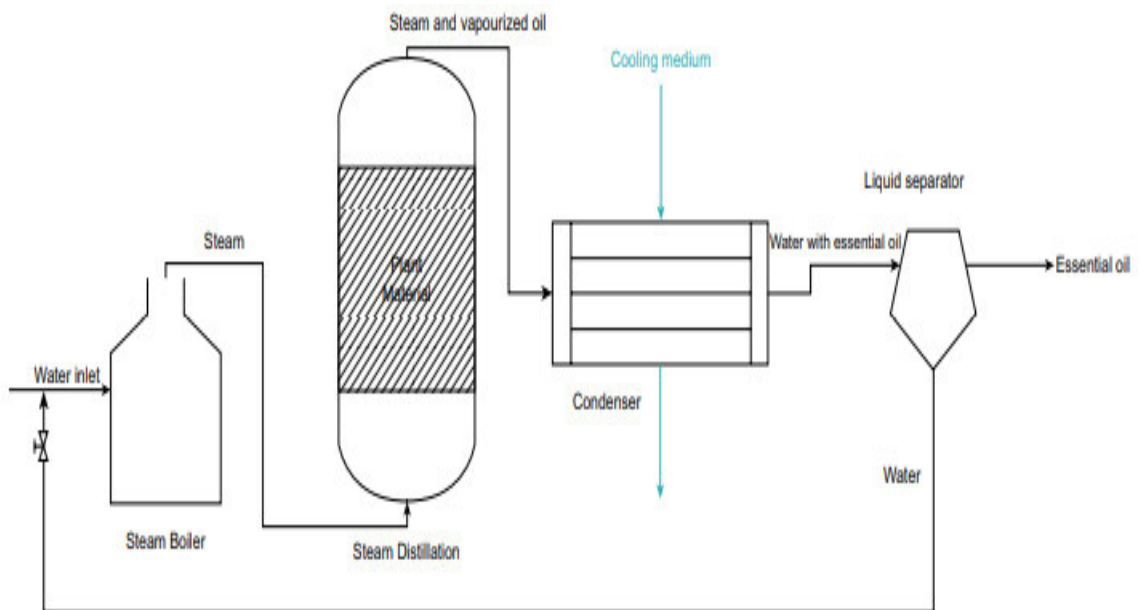


Figura 4. Flujograma de destilación por vapor de agua.

Fuente: Masango 2005

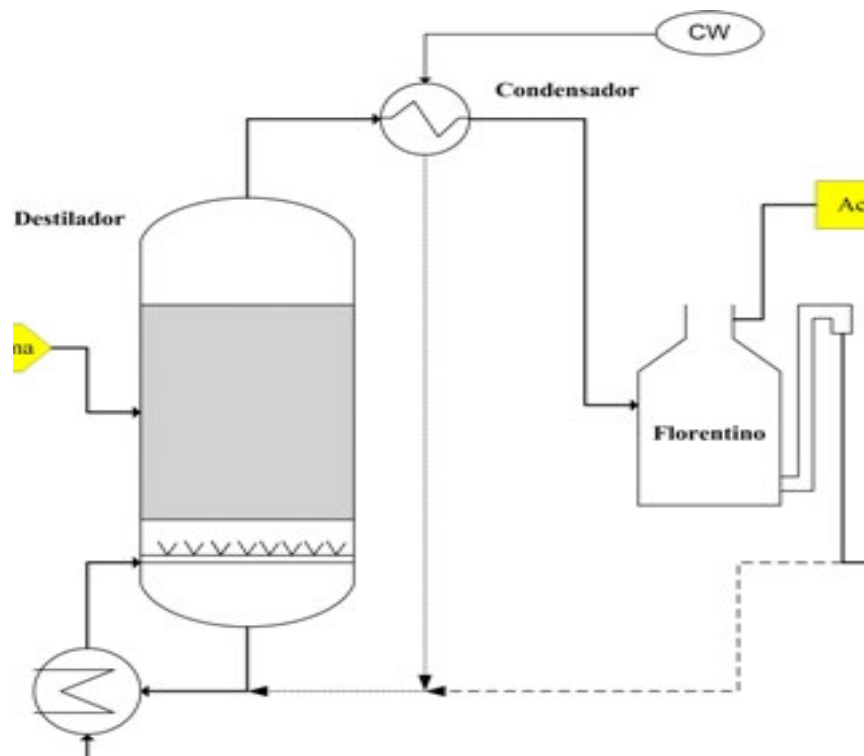


Figura 5. Flujograma de destilación por vapor de agua.

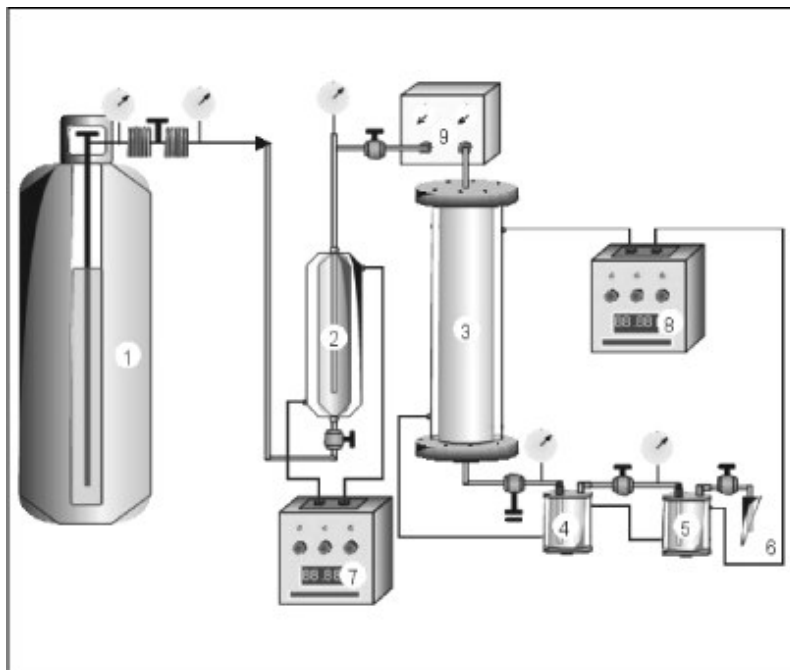
Fuente: Masango 2005

2.4.2.3 Extracción por fluidos supercríticos

Los métodos de extracción convencionales como la destilación al vapor y la extracción con solventes se han utilizado tradicionalmente; sin embargo, estos métodos tienen desventajas tales como bajo rendimiento, pérdida de compuestos volátiles, largos tiempos de extracción y residuos de solventes tóxicos²⁵. Una alternativa para estos métodos convencionales es la extracción mediante el uso de fluidos supercríticos (EFS). En general, el material sólido se coloca en un recipiente en el que se agrega el fluido supercrítico bajo un caudal específico hasta que se alcanzan las condiciones de extracción apropiadas²⁶.

Generalmente se realiza a bajas temperaturas, por lo que es un método muy adecuado para compuestos térmicamente sensibles. El poder de solvatación (interacción de un soluto con el solvente del fluido) se puede controlar cambiando presión y/o temperatura, lo que conduce a una selectividad muy alta. Sin embargo, se debe evitar las altas presiones porque pueden conducir a la extracción de

compuestos no deseados de elevado peso molecular (extracción simultánea de ceras durante el aislamiento de aceites esenciales). Los fluidos supercríticos, debido a su menor viscosidad y mayor difusión pueden ingresar materiales sólidos porosos de manera más efectiva en comparación con solventes líquidos, lo que resulta en una transferencia de masa y una extracción más rápida en comparación con los métodos de extracción con solventes. Es un método considerado amigable con el medio ambiente ya que usa fluidos no tóxicos como el CO₂, en algunos casos, usa cantidades significativamente menores de solvente orgánico^{25,26}.



Leyenda:

1. Cilindro de CO₂
2. Tanque de compensación
3. Extractor
4. Separadores
5. Separadores
6. Colector y dispositivo medición de presión
7. Baño termostático
8. Bomba isocrática

Figura 6. Esquema de una Unidad de Fluidos Supercríticos

Fuente: Tomado de Sarmiento y Col.

2.4.2.4 Extracción asistida por microondas

La extracción asistida por microondas (EAM) debido a su mecanismo de calentamiento único, basado en la fricción, presenta un buen desempeño en condiciones atmosféricas. En comparación con los métodos de extracción convencionales, la EAM conduce a mayores rendimientos de extracción, tiempos de extracción más cortos y una mayor selectividad. Por otra parte, también se puede considerar superior a la extracción por fluidos supercríticos en términos de simplicidad y costo de operación. Sin embargo, generalmente requiere una mayor cantidad de solvente orgánico haciéndolo menos ecológico. En un intento de

tomar ventaja del calentamiento por microondas, la extracción asistida por microondas se ha combinado con métodos convencionales desarrollando métodos como, la extracción por solvente asistida por microondas, hidrodestilación de microondas al vacío, destilación de aire comprimido por microondas y destilación de vapor acelerado por microondas²⁷⁻²⁸.

Uno de los métodos más prometedores y más utilizado para la extracción de aceites esenciales es la EAM asistida sin solvente (EAMS). Dicha extracción reduce significativamente los tiempos de extracción en comparación con los métodos convencionales, el tiempo de extracción para aceites esenciales puede comprender desde unas pocas horas hasta 20 minutos. Además, se caracteriza por presentar un bajo costo operativo. Entre los aceites esenciales extraídos por EAMS, podemos mencionar al aceite esencial de “cardamomo” *Elettaria cardamomum* L. debido a la mayor cantidad de compuestos oxigenados presentes en sus aceite, características altamente aromáticas siendo preferible su extracción asistida que por hidrodestilación (HD)²⁹.

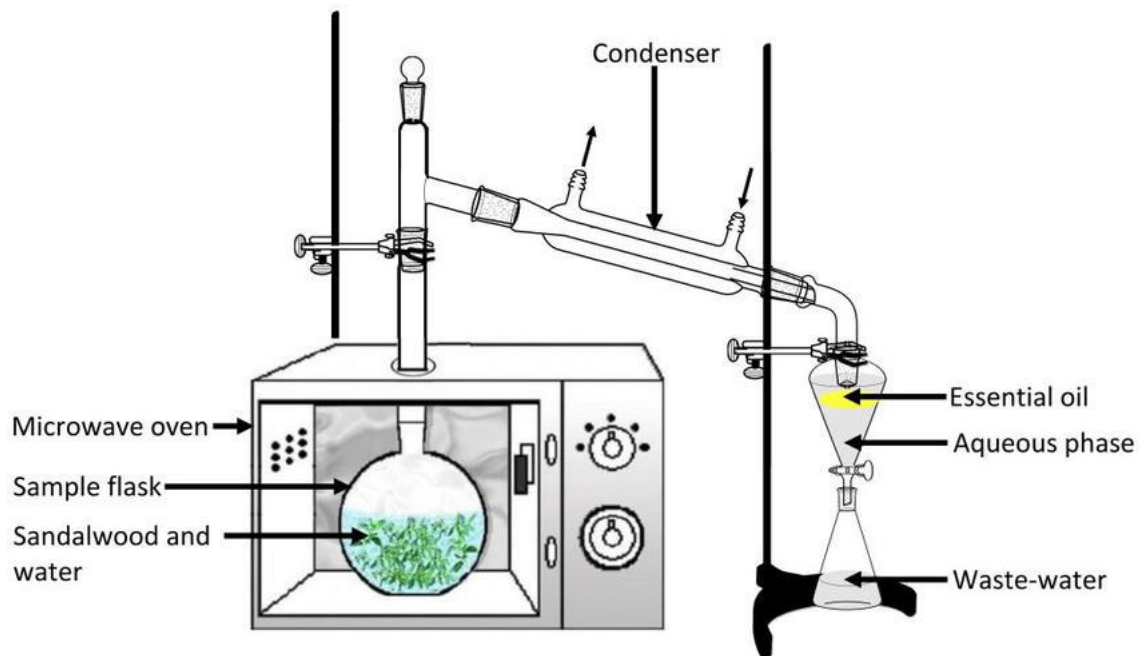
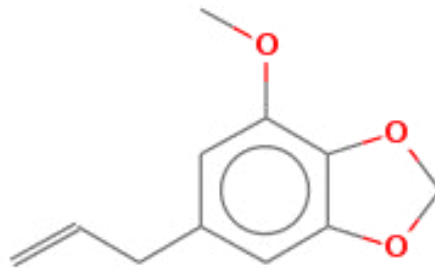


Figura 7. Esquema de una Extracción asistida por microondas.

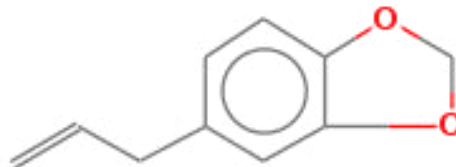
Fuente. Tomada de Journal of Food Science and Technology.

2.4.3 Principales componentes de los aceites esenciales

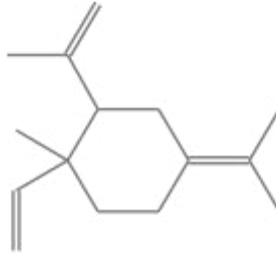
Los aceites esenciales presentan metabolitos secundarios y se clasifican como terpenoides, derivados del ácido shikimico, policétidos y alcaloides. Los constituyentes de los aceites esenciales vegetales se dividen principalmente en dos clases químicas distintas: terpenos y fenilpropanoides. Aunque los terpenos y sus derivados oxigenados (terpenoides) son más frecuentes y abundantes en los aceites esenciales, ciertas especies contienen altas cantidades de derivados del ácido shikimico (fenilpropanoides), y cuando estos compuestos están presentes, proporcionan un olor y sabor específicos a la planta. La composición de los aceites esenciales es compleja y una de las formas para clasificarlos es considerando a los componentes mayoritarios. Los hidrocarburos conocidos como terpenos y los compuestos que contienen oxígeno llamados terpenoides son los componentes más importantes de los aceites esenciales. Los terpenos están constituidos de acuerdo al químico alemán Otto Wallach (1887), por dos o más unidades C₅ conocidas como unidades isopreno, 2-metil-1,3-butadieno ³⁰.



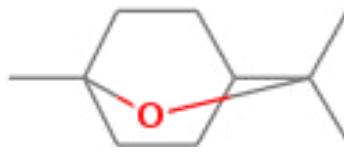
1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)



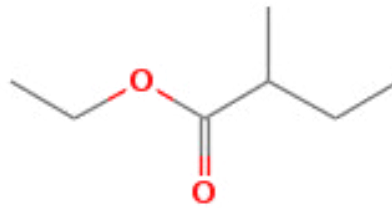
Safrole



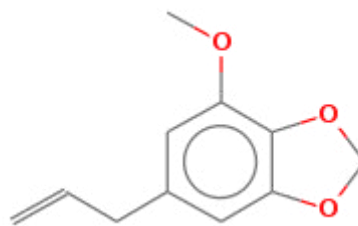
Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-



Eucalyptol



Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester



1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-

Figura 8. Principales componentes de los aceites esenciales.

Fuente: Hand Book of Essential oils

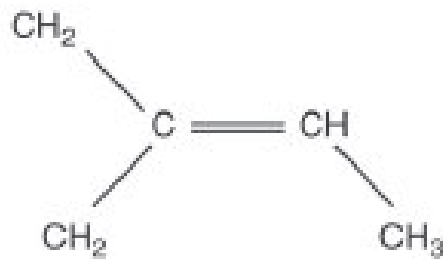


Figura 9. Unidad estructural isopreno

Fuente: Pubchem- National libray of Medicine

2.4.4 Identificación y cuantificaciones de los compuestos químicos de los aceites esenciales

2.4.4.1 Cromatografía de gases FID

La cromatografía de gases es una técnica muy utilizada para separar los diferentes compuestos volátiles de una muestra. La fase móvil es un gas inerte, (nitrógeno o helio) que transporta la muestra volatilizada en el inyector a través de la columna cromatográfica. La fase estacionaria generalmente está constituida por una columna de metil polisiloxano, o derivados de éste. Los diferentes compuestos se separan en función de su grado de volatilidad (punto de ebullición, peso molecular) y su afinidad por la fase estacionaria. Entre los detectores más utilizados caben mencionar el detector FID (ionización de llama) que, por su alta versatilidad, hace posible la detección de un elevado tipo de compuestos. La velocidad de migración de cada componente y su tiempo de retención en la columna será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria

³¹.

Los diversos componentes de la muestra se separan en bandas que pueden analizarse tanto cualitativa como cuantitativamente mediante el empleo de los detectores seleccionados. Cuando se desea analizar los componentes volátiles contenidos en una muestra, es necesario efectuar la extracción de espacio en cabeza (HS: "head-space"), es una alternativa que evita la pérdida de los componentes más volátiles. En este método, la muestra se coloca en un vial sellado con un septum y se calienta durante un tiempo determinado a la temperatura fijada ³¹.

La mayor parte de los compuestos volátiles son transferidos a la cámara de aire del vial. Se somete a calentamiento hasta alcanzar el equilibrio y se extrae una alícuota y se inyecta en el cromatógrafo³¹.

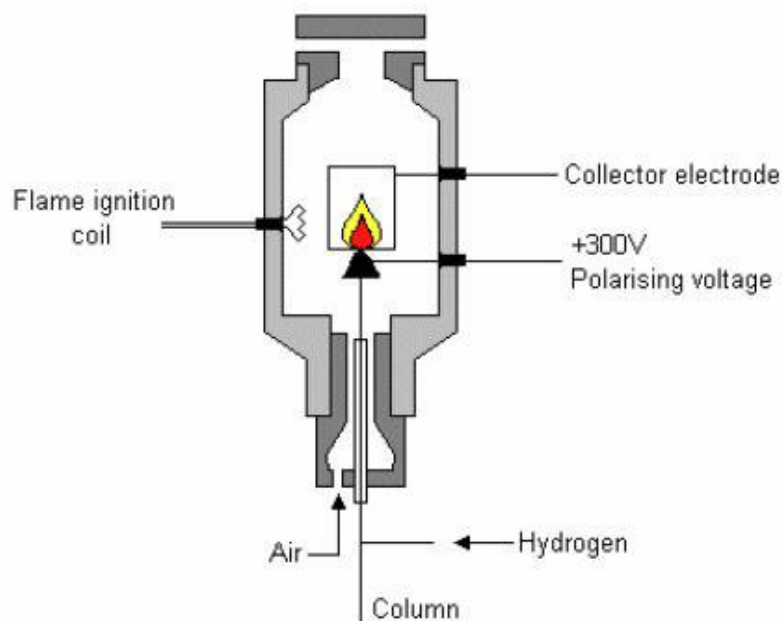


Figura 10. Detector de ionización a la llama

Fuente: Tomado de Peak scientific

2.4.4.2 Cromatografía de gases MS

En el espectrómetro de masas se utiliza un sistema de ionización, el más frecuente es el de impacto electrónico³¹. El uso de este equipo requiere sistemas especiales de conexión. Aplica dos técnicas que trabajan en fase gaseosa y necesitando pequeña cantidad de muestra³².

El espectrómetro de masas proporciona espectros y a la vez funciona como detector cromatográfico. En efecto, la corriente iónica generada por todos los iones da lugar a un pico gaussiano de área proporcional a la concentración del compuesto detectado³¹⁻³³.

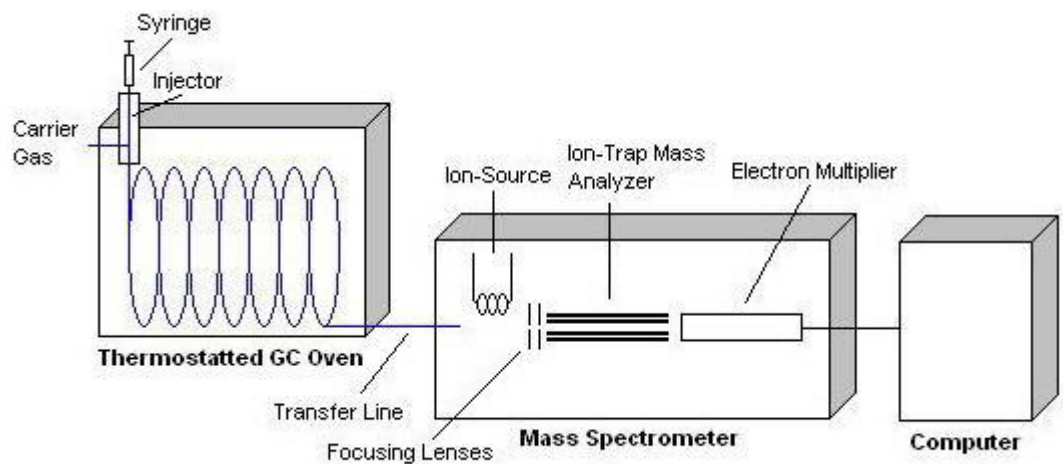


Figura 11. Representación de un detector de espectrometría de masas.

Fuente: Tomado de Socratic Q&A

2.5 Antioxidantes y Oxidantes

El oxígeno es esencial para la vida tal como la conocemos en nuestro planeta, pero también es inherentemente peligroso para todos los organismos aeróbicos esto se conoce como la paradoja del oxígeno¹. Los efectos nocivos del oxígeno provienen del hecho de que cada átomo de oxígeno tiene un electrón no apareado en su capa externa de valencia, y el oxígeno molecular (O_2) tiene dos electrones no apareados, lo que hace incluso al O_2 un potencial radical libre³⁴.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS), son un grupo de moléculas responsables del daño causado por estrés oxidativo, todos provienen de la naturaleza radical inherente de O_2 ³⁴.

El O_2 sufre una reducción enzimática en la cadena de transporte de electrones relativamente eficiente dentro de las mitocondrias. Algunos átomos de oxígeno escapan a este proceso y pueden participar en una reacción química oxidativa-reductora a través de la reducción por vías no enzimática: la adición de un electrón al oxígeno da como resultado la creación del radical anión superóxido (O_2^-), un ROS. La adición de dos electrones (y dos protones) al oxígeno crea peróxido de hidrógeno (H_2O_2), otros ROS a pesar de que todos sus electrones de valencia estén emparejados. Una tercera adición de electrones creará el radical hidroxilo

altamente reactivo ($\cdot\text{OH}$) y un ion hidróxido (OH^-). Finalmente, la adición del cuarto electrón crea una molécula de agua ^{34,35}.

Las células fagocíticas (neutrófilos y macrófagos) también producen ROS intencionalmente como parte de sus mecanismos de defensa. Para mantener una homeostasis oxidativa adecuada, las células han desarrollado una variedad de moléculas antioxidantes que se pueden producir u obtener de la dieta, así como mecanismos antioxidantes enzimáticos para contrarrestar las ROS. Si bien los mecanismos de defensa antioxidante son relativamente efectivos, son múltiples factores que pueden desencadenar en un desequilibrio REDOX ³⁵.

2.5.1 Enfermedades y lesiones asociadas con radicales libres

La lista de enfermedades, lesiones y toxicidades que se han asociado con los radicales libres es demasiado extensa para discutir o incluso enumerar en detalle. Se proporciona una visión abreviada de la gama de trastornos para los que se han propuesto procesos mediados por radicales. Es interesante notar que cada sistema de órganos está incluido y que los químicos de una amplia gama de clasificaciones son implicados.

Enfermedades y lesiones tisulares producidas por radicales libres ³⁶:

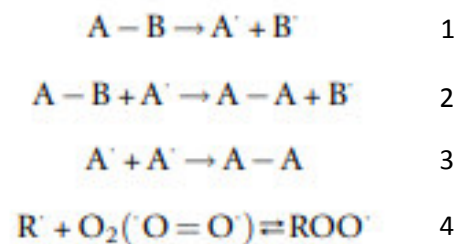
- Lesión hiperóxica normobárica
- Displasia broncopulmonar
- Asbestosis
- Síndrome de dificultad respiratoria del adulto
- Enfisema
- Fibrosis pulmonar idiopática
- Reperfusión: después de infarto o trasplante
- Aterosclerosis
- Deficiencia de selenio (enfermedad de Keshan)
- Hemocromatosis
- Nefrosis autoinmune: inflamación
- Productos químicos: aminoglucósidos, metales pesados
- Hígado

- Reperusión
- Productos químicos: hidrocarburos halogenados, quinonas, hierro, acetaminofeno, etanol.
- Endotoxina
- Tracto gastrointestinal
- Productos químicos: agentes antiinflamatorios no esteroideos
- Sangre
- Productos químicos: fenilhidrazina, primaquina y medicamentos relacionados, sulfonamidas, plomo
- Fotooxidación de protoporfirina
- Malaria
- Diversas anemias: células falciformes, favismo
- Ojo
- Retinopatía del prematuro (oxígeno)
- Retinopatía fótica
- Cataratas
- Piel
- Radiación: solar o ionizante.
- Lesión térmica
- Productos químicos: fotosensibilizadores (es decir, tetraciclinas)
- Dermatitis de contacto
- Porfiria
- Distrofia muscular
- Esclerosis múltiple
- Envejecimiento
- Lesión por radiación
- Diabetes
- Artritis reumatoide y otras enfermedades autoinmunes como el lupus
- Inflamación
- Trauma
- Isquemia / reperusión
- Neuropatía inducida por aluminio

- Enfermedad de Alzheimer
- La esclerosis lateral amiotrófica
- Síndrome de Down
- Daño hiperbárico
- Distrofias musculares
- Miastenia gravis
- Lipofuscinosis ceroidea neuronal (enfermedad de Batten)
- Enfermedad de Parkinson
- Lesión traumática
- Enfermedad de Werdnig-Hoffman

2.5.2 Radicales libres

Un radical es un átomo o molécula que contiene uno o más electrones no apareados. Los radicales pueden ser cargados o no cargados. Los sistemas de átomos y las moléculas generalmente progresan hacia estados de energías más bajas, y generalmente se puede lograr una estabilización considerable a través del acoplamiento de dos radicales y la formación de un enlace covalente. Por supuesto, algunos enlaces covalentes pueden romperse, y en ese caso cada uno de los dos fragmentos de una molécula no radicalaria se empareja por giro y retiene uno de los electrones que previamente formaron el enlace roto, por lo tanto, se forman dos radicales. Se pueden definir tres tipos generales de reacciones radicalarias, y las distinciones proporcionan una importante base para discutir los detalles de los radicales y sus reacciones mediadas. Las primeras reacciones de iniciación son aquellas en las que aumenta el número de especies radicalarias, las reacciones siguientes son de propagación, en las que el número de radicales no cambia, y luego las reacciones de terminación (3), son aquellas en las que los productos no contienen especies radicales³⁷.



El oxígeno molecular existe predominantemente como un diradical y es ubicuo en los sistemas biológicos aeróbicos. Por lo tanto, los radicales de oxígeno son fundamentales para muchos procesos biológicos, particularmente aquellas reacciones que involucran radicales libres (ver la sección Reactividad), lo que resulta en el uso frecuente de los radicales y oxidantes de manera intercambiable, a pesar de que los términos no son equivalentes. Según la definición formal ofrecida, la ecuación final (4) sería una reacción de propagación, aunque el número de moléculas radicales y el número de electrones no apareados son menores en los productos que en los reactivos ³⁸.

Entonces un radical libre es aquel que se ha difundido desde el sitio activo de la enzima o en el medio en la que se generó el radical y ya no está "controlado" por ese entorno. Los radicales que se retienen dentro de sus sitios de generación se denominan radicales "enjaulados".

La reactividad de una sustancia es una medida de la velocidad a la que esa sustancia se altera químicamente. Por lo tanto, las reactividades dependen de las propiedades intrínsecas de la sustancia y, en la mayoría de los casos, de la naturaleza y las concentraciones de los reactivos correctores. La disponibilidad de correactantes en sistemas biológicos es muy heterogénea debido a la amplia compartimentación. Por lo tanto, el microambiente específico en el que se genera un reactivo potencial puede ser un determinante crítico de las moléculas con las que reacciona la especie y, por lo tanto, la velocidad a la que reacciona el intermedio, por lo tanto, la reactividad de la molécula. Además de las influencias en la disponibilidad de reactivos potenciales, las distribuciones compartimentales de los sitios de generación de radicales, oxidantes y otras especies químicamente reactivas también ayudan a determinar las consecuencias perjudiciales y

biológicas de las funciones celulares impartidas por las alteraciones moleculares. La distinción entre radicales libres y enjaulados es importante, porque los radicales producidos por algunas reacciones catalizadas por enzimas están controlados y la pérdida de este control tiene implicaciones toxicológicas significativas³⁹.

2.6 Radiación Ultravioleta y fotoprotección

2.6.1 Definición

La radiación ultravioleta (UV) es una amenaza ambiental para el cuerpo humano, y casi toda la exposición a los rayos UV es a la piel. No es sorprendente que la exposición continua a esta radiación bioquímicamente activa tenga profundos efectos en la piel, con un gran impacto en la salud. La piel posee diversas respuestas específicas para minimizar el daño de esta toxina ambiental. A pesar de esto, la exposición a los rayos UV es una causa importante no solo de cáncer de piel sino también de una serie de otras enfermedades de la piel ⁴⁰.

Dado que la luz solar que alcanza la superficie de la Tierra solo contiene longitudes de onda de UV superiores a 290 nm, esta cuenta se centrará en los efectos de estas longitudes de onda más largas. La división clásica de UV son de tipo A, B y C, se basa en las características de transmisión de los filtros físicos. Sin embargo, a menudo se usa una división basada en los efectos biológicos en las discusiones sobre los rayos UV y la piel, con límites a 290 y 320 nm que dividen la radiación de longitud de onda corta que no llega a la superficie de la tierra (UVC) .

Los rayos UV de longitud de onda corta biológicamente activos (UVB 290– 320 nm), y UVA de longitud de onda más larga biológicamente menos activa (320– 400 nm). En los últimos años, ha quedado claro que UVA tiene efectos biológicos más importantes de lo que se pensaba anteriormente, aunque son menos obvios que los causados por UVB. Cuando los rayos UV entran en la piel, entran en un órgano vivo alterando una serie de funciones relacionadas con su función de interfaz del cuerpo con el medio ambiente. Estas funciones incluyen:

- protección (infección, pérdida de líquidos, trauma mecánico, productos químicos tóxicos)
- homeostático (regulación de la temperatura)
- psicosocial (debido a su visibilidad para otros humanos)
- función sensorial

Los fotones que ingresan a la piel son dispersados o absorbidos por moléculas en la piel. Dado que la dispersión es mayor en longitudes de onda más cortas, la UVB tiende a causar efectos en la epidermis y solo en la parte superior de la dermis, mientras que los rayos UVA penetran más profundamente para causar efectos en toda la epidermis y la dermis^{40,41}.

Se ha acumulado evidencia epidemiológica y de laboratorio sobre el papel de los rayos UV en la inducción del cáncer de piel y el fotoenvejecimiento de la piel. Esto ha llevado a una creciente conciencia de la importancia de la protección de la piel contra los rayos UV. Las campañas de educación para la salud pública han enfatizado la necesidad de conductas para evitar el sol y el uso de sombreros, ropa y protectores solares para protegerse contra los rayos UV. Durante el mismo período, los protectores solares se han vuelto cada vez más efectivos y cosméticamente aceptables. Durante muchos años, los principales protectores solares consistieron en moléculas orgánicas absorbentes de UV. En los últimos años, los absorbentes orgánicos se han hecho más fotoestables, siendo más protectores en formulaciones más cosméticamente aceptables y se han reducido los problemas de alergia de la piel a los productos químicos tradicionales de protección solar^{42,43}.

La protección UVB es evaluada por el FPS, una medida de la protección contra las quemaduras solares, definido como el factor por el cual la dosis mínima de eritema se incrementa. En la práctica, los humanos tienden a aplicar filtros solares de manera desigual y en una fracción de este grosor, por lo que los SPF en la práctica generalmente se reducen. Dado que muchos investigadores consideran que la inmunosupresión inducida por UV es más patológicamente significativa que el eritema inducido por UV, el factor de protección inmune (IPF) se ha propuesto como una medida de protección contra la supresión inmune. Sin

embargo, es laborioso medirlo y no se ha adoptado en gran medida. En los últimos años, la realización del papel clave de los rayos UVA en el fotoenvejecimiento, y su posible papel en la inducción del melanoma, ha resultado en el desarrollo de protectores solares que protegen contra los rayos UVA. Contienen productos químicos orgánicos que absorben los rayos UVA o filtros solares en partículas reflectantes micronizadas, es decir, de tamaño de partícula ultra pequeño, por ejemplo nanopartículas de TiO₂ o ZnO⁴¹⁻⁴³.

El comportamiento de la exposición al sol es difícil de alterar, incluso en pacientes en quienes esto es clínicamente importante. Un estudio de pacientes después de un diagnóstico de melanoma maligno ha demostrado que su mejora en la fotoprotección como resultado del diagnóstico persiste durante un promedio de alrededor de 18 meses antes de que el comportamiento de exposición al sol vuelva al nivel de pre-diagnóstico y las quemaduras solares son una experiencia desagradable⁴⁴.

2.7. Bacterias

2.7.1 *Staphylococcus aureus*

El género *Staphylococcus* comprende más de 50 especies. Estas bacterias pequeñas y resistentes son habitantes normales de la piel y las membranas mucosas en muchas especies animales, incluidos los humanos; También son ubicuos en el medio ambiente. Sin embargo, *Staphylococcus aureus* también es un importante patógeno de humanos y animales. Es una causa común de infecciones de la piel y enfermedades transmitidas por alimentos. También es una causa importante de mastitis en animales lecheros y de lesiones óseas y articulares en aves de corral así como una causa ocasional de infecciones de la piel en el ganado. Los animales de compañía, como perros, gatos y caballos, pueden desempeñar un papel en la transmisión de *S. aureus*; También son vulnerables a las infecciones por *S. aureus*⁴⁵.

El mayor reservorio ecológico de cepas humanas de *S. aureus* es la nariz humana; sin embargo, la piel, el cabello y las membranas mucosas también pueden estar colonizadas. Estas bacterias residentes normalmente no causan enfermedades, pero el transporte nasal está fuertemente asociado con la infección; aunque solo una pequeña minoría de portadores enfermará por la infección por *S. aureus*⁴⁶. La salud de los humanos y los animales es estrechamente interdependiente y muchas enfermedades humanas se comparten con los animales y viceversa. La epidemiología molecular sugiere que *S. aureus* ha saltado de humanos a ganado varias veces en el pasado y rara vez ha cambiado especies de ganado a personas. Actualmente se cree que hubo al menos 13 saltos de humanos y animales y dos saltos de poblaciones de animales a humanos⁴⁷. Como en muchas enfermedades, las infecciones por *S. aureus* tienden a aparecer en brotes cíclicos cuando aparecen nuevas cepas epidémicas, se propagan ampliamente y luego se desvanecen nuevamente. En humanos, *S. aureus* puede infectar la piel dañada, lo que resulta en infecciones superficiales o profundas de la piel y los tejidos blandos. Con menos frecuencia, pero con consecuencias más graves el *S. aureus* puede causar bacteriemias. Esto suele estar relacionado con el hospital, después de la ruptura de la barrera cutánea con dispositivos quirúrgicos o implantes. La bacteriemia puede ser una septicemia complicada y localización en órganos, articulaciones, huesos y otros lugares. La neumonía estafilocócica puede ser una infección primaria o el resultado de la diseminación hematogena: no es común en infecciones adquiridas en la comunidad, pero sí en infecciones adquiridas en el hospital. Los recién nacidos, especialmente los que nacen prematuramente, también son susceptibles a la enfermedad estafilocócica, lo que resulta en el síndrome de piel escaldada y otras manifestaciones⁴⁵⁻⁴⁷.

2.7.2 *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es un organismo ubicuo. A escala de laboratorio, *B. subtilis* es fácil de cultivar y manipular. Habita en el suelo, las raíces de las plantas y los ambientes acuáticos. Aunque *B. subtilis* puede crecer en el tracto gastrointestinal de los animales, no se considera un patógeno humano. De hecho, *B. subtilis* junto con otras especies de *Bacillus* es considerado un organismo generalmente considerado como seguro por la Administración de Drogas y Alimentos (FDA). Además, *B. subtilis* ha sido ampliamente utilizado en biotecnología. Recientemente, la mejor expresión y secreción de proteínas por *B. subtilis* se ha convertido en una herramienta eficiente para la producción de enzimas. Se estima que las especies de *Bacillus*, incluida *B. subtilis*, producen el 60% de las enzimas disponibles en el mercado. Además, *B. subtilis* desempeña un papel importante en la producción de alimentos (productos fermentados, potenciadores del sabor, edulcorantes y aditivos para piensos), detergentes domésticos, antibióticos y vitaminas y en el desarrollo de vacunas. La industria de la biotecnología ha ayudado a impulsar la investigación de la genética molecular y la biología celular, utilizando *B. subtilis* como uno de sus mejores herramientas⁴⁸⁻⁴⁹.

Los bacilos grampositivos se pueden dividir en los que forman esporas. Al igual que otros bacilos grampositivos formadores de esporas, *B. subtilis* produce esporas, conocidas como endosporas. Las esporas son extremadamente resistentes al calor y otras tensiones ambientales. Durante condiciones desfavorables los bacilos Gram-positivos que forman esporas, inician la formación de esporas, este proceso se llama esporulación. La esporulación es un ciclo de desarrollo que involucra una red compleja y altamente regulada de expresión génica que resulta en la formación de dos tipos de células, la célula vegetativa y la espora. Las esporas bacterianas pueden soportar ambientes hostiles durante largos períodos de tiempo, permitiendo así la dispersión del organismo. Cuando la espora se expone a condiciones más favorables, germinará y continuará su ciclo de vida. A diferencia de su miembro de la familia *Bacillus anthracis*, el agente causante del ántrax, *B. subtilis* no causa enfermedad. Siendo un organismo modelo para el estudio de la esporulación. Además, los mecanismos implicados en la

esporulación se conservan en otros organismos patógenos esporulantes, como *B. anthracis* y clostridios por ejemplo; el *Clostridium difficile* causante número uno de diarrea asociada a la atención médica, *Clostridium tetani*, el agente causante del tétanos, *Clostridium botulinum*, agente productor del botulismo y *Clostridium perfringens*, desarrollador de gangrena, son ejemplos de bacilos patógenos Gram-positivos que producen esporas en condiciones anaerobias ^{49,50}.

Dado que *B. subtilis* es un organismo altamente móvil, la quimiotaxis desempeña un papel importante en la capacidad de *B. subtilis* para sobrevivir en el medio ambiente. La genética, la bioquímica y los mecanismos moleculares de la motilidad y la quimiotaxis se han estudiado ampliamente en *Escherichia coli* y *Salmonella*, que son organismos gramnegativos. A medida que los genomas bacterianos completos estuvieron disponibles, los estudios en los que se compararon los genomas de *E. coli* y *B. subtilis* identificaron varias diferencias entre los dos organismos. Con ese fin, la utilidad de *B. subtilis* como organismo modelo para el estudio de la motilidad y la quimiotaxis se hizo evidente y ha proporcionado nuevos conocimientos sobre dos funciones celulares complicadas, pero esenciales ⁵¹.

2.7.3 *Escherichia coli*

Descrita por primera vez por Theodor Escherich a partir de muestras de heces de bebés sanos en 1885, anteriormente denominada *Bacterium coli* o *Bacillus coli* es anaerobia facultativa gramnegativa no formadora de esporas y ha experimentado cambios considerables en sus perfiles durante las décadas posteriores. Desde un inocuo comensal intestinal hasta un importante patógeno de humanos y animales, ahora se sabe que la *E. coli* patógena causa un espectro de enfermedades clínicas en humanos y animales, incluida la infección del tracto urinario, infecciones de la sangre y del sistema nervioso central produciendo sepsis o meningitis e infección gastroentérica. La bacteria *E. coli*, se puede clasificar en ⁵².

- Enterotoxigénico
- Enteropatógeno

- Enteroagregativo
- Enteroagregativo productor de toxina Shiga
- Enteroinvasivo
- Difusamente adherente
- Adherente invasivo
- Uropatógeno
- Meningitis asociada

E. coli está bien adaptada para colonizar el intestino de los mamíferos y rara vez causa enfermedades, no solo coloniza el intestino grueso de los vertebrados sino también el íleon, el segmento distal del intestino delgado. En el íleon, *E. coli* puede ser seleccionada para un crecimiento rápido en condiciones oxigenadas y en el colon, en competencia por nutrientes limitados y en presencia de productos químicos nocivos en condiciones anóxicas. Cuando las cepas humanas se cultivan en el laboratorio, tienden a perder la capacidad de colonizar. Entre estos se incluye la cepa tipo a K12, la más utilizada en microbiología molecular. Periódicamente depositada desde su residencia intestinal en suelos y aguas, la bacteria *E. coli* no sobrevive por períodos prolongados en tales ambientes y puede ser cultivada solo por unos pocos días (pocas semanas) después de su introducción. Por esta razón, su presencia se ha tomado como una medida de la contaminación fecal reciente, y el conteo de coliformes del suministro de agua potable o de las instalaciones de natación sigue siendo una medida común de la pureza microbiológica del agua ⁵³.

Todos los mamíferos se colonizan con *E. coli* a los pocos días de nacer, posiblemente durante el paso a través del canal de parto o, poco después del parto, a través de la ruta fecal-oral de la madre u otros asistentes. Dos vías importantes por las cuales las bacterias pueden invadir y diseminarse dentro del tracto urinario son las vías ascendentes y hematógenas. La ruta ascendente es un paradigma de infección ampliamente aceptado, que implica la ascensión de bacterias desde el microbiota intestinal hasta la vagina y luego la vejiga, es decir, la vía fecal-perineal-uretral y la flora rectal que sirve como reservorio de las cepas que infectan el tracto urinario. Una vez que las bacterias ascienden a la vejiga, pueden multiplicarse y pasar al uréter. El desarrollo de la infección depende del organismo particular, el tamaño del inóculo y la adecuación de las defensas del huésped. La

ruta hematogena facilita la infección del parénquima renal por organismos transmitidos por la sangre ⁵⁴.

2.7.4 Pseudomonas aeruginosa

Pseudomonas aeruginosa es un patógeno oportunista distribuido en el suelo y el agua, así como en ambientes asociados a animales, humanos y plantas. Se puede encontrar en grandes cantidades, en alimentos comunes, especialmente vegetales. Además, se puede recuperar en pequeñas cantidades en el agua potable. Esta distribución se atribuiría a su versátil metabolismo energético. Al igual que otras especies bacterianas que se encuentran en el medio ambiente, *P. aeruginosa* coloniza una amplia variedad de superficies (es decir, envases de alimentos, grifos de agua, dispositivos médicos) en forma de biopelícula, lo que hace que las células sean impermeables a los agentes antibacterianos, incluidos los compuestos de limpieza antisépticos, desinfectantes y antibióticos clínicamente relevantes y para las defensas del huésped mediadas por macrófagos y neutrófilos ⁵⁵.

Las biopelículas en los sistemas de agua potable pueden servir como reservorio ambiental para *P. aeruginosa*, representando una posible fuente de contaminación del agua, siendo un riesgo potencial para la salud humana (Mena y Gerba, 2009).. La comunicación célula-célula por señales químicas es frecuente en la matriz de biopelícula. *Pseudomonas aeruginosa* utiliza esta forma de señalización, denominada detección de quórum (QS), para coordinar otros comportamientos que generalmente implican beneficios para las bacterias, como la formación de biopelículas o la secreción de factores extracelulares. El QS utiliza señales de N-acil-homoserina-lactona para sincronizar la expresión génica durante la producción de polisacáridos, ramnolípidos (RL) y otros factores de virulencia. Cabe resaltar la fabricación de productos biotecnológicos prometedores, los RL producidos por *P. aeruginosa* han sido los biosurfactantes más investigados debido a sus posibles aplicaciones en una amplia variedad de industrias y para la biorremediación de aguas residuales ⁵⁶.

P. aeruginosa puede adquirir plásmidos que contienen genes de resistencia, y puede transferir estos genes mediante transducción y conjugación. Entonces, *P.*

aeruginosa es intrínsecamente resistente a muchos de los antibióticos utilizados en la práctica clínica. En los últimos años, la aparición de *P. aeruginosa* resistente a múltiples fármacos (MDR) ha sido un importante problema de salud pública en todo el mundo. Por otro lado, se han identificado aislamientos de *P. aeruginosa* que producen metalo-beta-lactamasa (MBL) en muestras de agua ambiental, un hecho que enfatiza la importancia de cepas ambientales⁵⁶.

Además, *Pseudomonas aeruginosa* es un importante patógeno humano oportunista que afecta principalmente a pacientes inmunocomprometidos, como aquellos con fibrosis quística o neoplasias hematológicas. Las infecciones resultantes de *P. aeruginosa* a menudo son iatrogénicas y están asociadas con la administración de soluciones contaminadas, medicamentos, nutrición parenteral y productos sanguíneos. Las defensas del paciente generalmente pueden estar debilitadas por enfermedad o cáncer, o puede haber defectos humorales o celulares específicos. Los pacientes neutropénicos son especialmente susceptibles a la infección por *P. aeruginosa* y a la septicemia posterior. Las infecciones clínicas más comunes causadas por *P. aeruginosa* son infecciones oculares, infecciones del oído (oído de nadador), infecciones respiratorias crónicas, infecciones de la piel y tejidos blandos (foliculitis en el jacuzzi) e infecciones hospitalarias (neumonía, quemaduras, orina, tracto respiratorio, y sangre). Con respecto a las infecciones, el uso de antibióticos de amplio espectro puede matar la microbiota comensal o más especies patógenas sensibles a los antibióticos que causan infección, promoviendo la colonización por cepas de *P. aeruginosa* resistentes a múltiples fármacos (Livermore, 2002), que están particularmente asociadas con infección respiratoria crónica progresiva y finalmente mortal en pacientes con fibrosis quística⁵⁷⁻⁵⁸.

El tratamiento efectivo de las infecciones causadas por *P. aeruginosa* incluye la prevención cuando sea posible, medidas de control de la fuente según sea necesario y la pronta administración de agentes antibacterianos apropiados.⁵⁸

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Materiales de laboratorio

- Espátula de acero inoxidable
- Cucharilla de acero inoxidable
- Cubetas de plástico VIS
- Cubetas de cuarzo UV-VIS
- Caja de puntas eppendorf, capacidad máxima de 1000 μ L
- Caja de puntas eppendorf, capacidad máxima de 200 μ L
- Micropipeta eppendorf, capacidad de 100 - 1000 μ L
- Micropipeta eppendorf, capacidad de 20 - 200 μ L
- Tubos de ensayo Pirex® 16x100 mm, 100 unidades
- Tubos de ensayo Pirex® 12x75 mm, 100 unidades
- Matraces Pirex® de 250 mL, 10 unidades
- Vaso Beaker® de 250mL, 10 unidades
- Probetas de 100 mL, 5 unidades
- Fiolas de 100 mL, 5 unidades
- Fiolas de 50 mL, 5 unidades
- Fiolas de 25 mL, 5 unidades
- Fiolas de 10 mL, 5 unidades
- Baguetas 6mm x 40cm, 10 unidades
- Embudo Buchner 24/40, 2 unidades
- Mortero y pilon
- Papel Whatman N°42
- Papel tissue

3.2. Equipos

- Balanza analítica digital AND HR-250AZ sensibilidad 252gr/0,1 mg.
- Centrífuga SMART R17.

- Evaporador rotatorio DLAB RE 100-Pro.
- Bomba de vacío VAS ÉS FÉMIPARI KTSZ SZEGED.
- Destilador por arrastre a vapor de agua
- Espectrofotómetro GENESYSTM 10S UV-VIS.
- Estufa Muszeripari Muvek (Esztergom).
- Baño maría Memmert.
- pHmetro Hanna- HI-151
- Cromatografía de Gases, Marca SHIMADZU, acoplado de Espectrómetro de Masas, CG/MS-QP120 Ultra.
- Refractómetro Marca ATAGO Japan Modelo Johering

3.3. Reactivos

Reactivos químicos:

- DPPH[•]
- ABTS^{•+}
- etanol absoluto
- metanol
- n-butanol
- Persulfato de potasio
- Dimetilsulfoxido (DMSO)
- Trolox®
- Cloroformo
- Propilenglicol
- Éter etílico

Los reactivos son de grado analítico (ACS) y se adquirieron de las casas comerciales MERCK y SIGMA.

3.4. Procedimientos para la obtención del aceite esencial

3.4.1 Colecta e identificación del material biológico

Las hojas y tallos de *Peperomia galioides* Kunth, se colectaron en la provincia de Pallasca, departamento de Ancash a 3100 metros de altitud, en el periodo comprendido entre Abril-Mayo del 2018. Constancia de certificación taxonómica Anexo 1.

3.4.2. Tratamiento de la muestra y rendimiento del aceite esencial

El material vegetal fue lavado con abundante agua destilada para retirar rastros de tierra y suciedad, luego se trataron en un equipo de destilación por arrastre a vapor de agua, la separación se realizó por diferencias de densidades; entre el agua y el aceite esencial utilizando un embudo de decantación de vidrio, el resto de agua se eliminó con Na₂SO₄ anhidro. La fracción hidrófoba se pasó por un filtro de 0,25 µm y finalmente se conservó en un frasco de vidrio de color ámbar a una temperatura de 4°C⁵⁹.

3.4.3. Prueba de miscibilidad del aceite esencial

Una alícuota del aceite esencial se sometió a un ensayo de solubilidad con los siguientes solventes: cloroformo, dimetilsulfoxido, propilenglicol, éter etílico, n-butanol, etanol, metanol, agua destilada. Los resultados serán interpretados siguiendo la escala: soluble (+++), ligeramente soluble (++) e insoluble (-).

3.4.4. Ensayos fisicoquímicos

Ensayo de densidad relativa

Se evaluó pesando cuidadosamente el picnómetro, picnómetro con agua destilada y con la muestra. Donde:

$$D = (P.MP - P) \div (P.agua - P)$$

Donde:

D: Densidad relativa.

P. MP : Peso del picnómetro con muestra (g).

P. agua: Peso del picnómetro con agua destilada (g).

P : Peso del picnómetro vacío (g).

3.5. Procedimientos analíticos-experimentales

3.5.1. Composición química del aceite esencial por Cromatografía de Gases

3.5.1.1. Condiciones del equipo

Análisis de Componentes No Volátiles - Inyección Líquida (LS-Liquid syringe) ⁶⁰.

Se identificaron los componentes no volátiles, por CG/MS SHIMADZU, modelo: SHIMADZU, GC-2010 Plus; bajo las siguientes características: Columna RESTEK, RTX-5MS 30m x; 0,25 mm de diámetro interno (DI); tamaño de poro 0,25 µm.

Condiciones de operaciones: Jeringa LS1-10uL, volumen de inyección de 1 uL, flujo de columna 0,80 mL/min, flujo de purga 3 mL/min. Temperatura de inicio de 50°C manteniéndose por 30 min y se aumenta a 150°C de 3°C/min, manteniéndose por 10 min. Se registra un aumento adicional de 250°C de 3°C/min, manteniéndose por 20 min.

Análisis de Componentes Volátiles - Inyección por Headspace (HS) ⁶⁰.

Para la separación e identificación de los componentes volátiles, se utilizó un Cromatógrafo de Gases acoplado a un detector Espectrometría de Masas

(GC/MS) SHIMADZU, modelo: SHIMADZU, GC-2010 Plus; bajo las siguientes características: Columna RESTEK, RTX-5MS 30m x; 0,25 mm de diámetro interno (DI); tamaño de poro 0,25 µm.

Condiciones de operaciones: Jeringa 2,5mL-HS1, temperatura de incubación de 60°C, Tiempo de incubación de 20min, velocidad de agitación de 250 rpm, flujo de inyección de 10mL/min, flujo de columna 0,80 mL/min, flujo de purga 3 mL/min. Temperatura de inicio de 50°C manteniéndose por 30 min y se aumenta a 150°C de 3°C/min, manteniéndose por 30 segundos. Se registra un aumento adicional de 250°C de 6°C/min, manteniéndose por 30 segundos.

3.5.1.2. Preparación de la muestra

Se recibió la muestra de aceite esencial de *Peperomia gallioides* Kunth “congona”. La muestra se secó con sulfato de sodio anhidro y se filtró usando filtro de jeringa de nylon 0.45µm a las condiciones ambientales de Temperatura: 22°C; Humedad relativa: 58%⁶⁰.

3.5.1.3. Procedimiento e interpretación

Análisis de Componentes No Volátiles - Inyección Líquida (LS-Liquid syringe)

Se diluyeron las muestras filtradas en la proporción de 1:100 V/V en acetona filtrada y se colocaron en viales. Los viales se colocaron inmediatamente en el automuestreador del GC/MS para su lectura.

Análisis de Componentes Volátiles - Inyección por Headspace (HS)

Se tomó 200µL de la muestra filtrada y se colocó en el vial de Headspace (HS) de 10mL. El vial de HS se colocó inmediatamente en el automuestreador del GC/MS para su lectura.

3.5.2. Capacidad antioxidante por el método DPPH ⁶¹.

3.5.2.1. Preparación de la muestra

Se realizaron diluciones del aceite esencial a las concentraciones de 0; 2,5; 5; 10; 12,5 y 20 % v/v con el solvente dimetilsulfoxido.

El estándar Trolox se preparó a las concentraciones de 0; 3; 6; 9 y 12 ug/mL.

3.5.2.2. Preparación de la solución de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Se pesó 20mg de DPPH y se disolvió en 50mL de metanol para obtener una solución stock. Se preparó la solución de trabajo de DPPH, midiéndose 1,7 mL de la solución stock de DPPH para llevarlo a un volumen final de 20 ml con metanol, se midió la absorbancia final a una longitud de 517 nm para obtener absorbancia entre 0,600 – 0,700 nm \pm 0.02.

3.5.2.3. Procedimiento e interpretación

Luego de la obtención de la solución de trabajo DPPH. Se calibra con un blanco de muestra problema y metanol en relación 1 a 2. La misma relación se utilizó para preparar la muestra problema y de la solución de trabajo de DPPH, dejándose en reposo por 30 minutos alejado de la luz. Se leyó las absorbancias a 517nm. Se calculó el porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = (\text{Abs.DPPH}-\text{Abs.muestra}) / (\text{Abs.DPPH}) \times 100$$

Se determinó el valor TEAC según la siguiente fórmula:

$$\text{TEAC} = \text{CI 50 Trolox } \mu\text{g/mL} / \text{CI 50 DPPH muestra mg/mL}$$

3.5.3. Capacidad antioxidante por el método ABTS^{•+} 62.

3.5.3.1. Preparación de la muestra

Se realizaron diluciones del aceite esencial a concentraciones de 0; 2,0656; 4,5312; 9,0625 y 18,125 % V/V, con el solvente dimetilsulfoxido.

El estándar Trolox se preparó a las concentraciones de 0; 50; 100; 150; 200 y 300 ug/mL.

3.5.3.2. Preparación de la solución stock de β , β' -azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS^{•+})

Se realizó la activación del radical ABTS^{•+}, preparando una solución acuosa stock de ABTS 7mM y añadiéndoles persulfato de potasio para una concentración final de 2.45 mM. Se dejó reaccionar durante 16 h a temperatura ambiente y en oscuridad. Luego de la activación, se preparó una dilución para obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.02 a 734nm.

3.5.3.3. Procedimiento

Luego de obtener la solución de trabajo ABTS^{•+}, se calibró con un blanco de 20 μ L de solvente de muestra y 980 μ L de agua bidestilada. Se repite el ensayo con la muestra problema y la solución ABTS^{•+}, se agita y se deja en reposo por 7 minutos alejado de la luz. Se lee a 734 nm, calculándose el porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Inhibición} = (\text{Abs.ABTS} - \text{Abs.muestra}) / (\text{Abs.ABTS}) \times 100$$

Se determinó el valor TEAC según la siguiente formula:

$$\text{TEAC} = \text{CI 50 Trolox } \mu\text{g/mL} / \text{CI 50 ABTS muestra mg/mL}$$

3.5.4. Evaluación de la actividad antibacteriana ^{63, 64}.

3.5.4.1. Fundamento del método de microdilución

El método de microdilución está actualmente estandarizado y presenta las características de ser preciso, sencillo y de bajo costo por lo que se consideró el más adecuado para la presente investigación. El fundamento es que al hacer uso de resazurina, el cual es un colorante redox de las células bacterianas activas causan la reducción de la resazurina (púrpura-azul) a resorufina (rosado-incoloro) pudiendo reducirse aún más a hidrorresorufina de esta manera se cuantifica indirectamente el metabolismo bacteriano.

Se utilizaron microdiluciones cuantitativas de un grupo de muestras para determinar la concentración mínima que inhibe el desarrollo bacteriano (CMI) siguiendo los protocolos del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio CLSI M07-A10.

Lectura e interpretación de los resultados.

Los resultados se reportaron por cambio de color, siendo el valor de la CMI la menor concentración del aceite esencial en la cual no hay bacterias presentes en los pocillos de la microplaca detectándose así el pocillo donde no existió cambio de color rosado-incoloro, los resultados fueron realizados por duplicado.

3.5.4.2. Método por difusión en agar

Reactivación de cepas:

Se sembraron las cepas de *Escherichia coli* ATCC25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC25923 a partir de los ceparios, en 5 mL de caldo TSB, incubándolas a 37°C por 12 horas (*overnight*). Procedimiento similar se siguió con las cepas de *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12229 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 9027.

Preparación de inóculos:

Se sembraron las cepas en placas con Agar TSA por estriado, incubándolas a 37°C por 24 horas. Después se verificó su pureza por tinción Gram.

Se inoculo 200uL en un matraz con 50mL de caldo TSB para cada una de las cepas, incubando a 37°C. A partir de las 5 horas, se extrajo 5mL de cada uno de los matraces y se midió en el espectrofotómetro a 625nm. Se realizó el mismo procedimiento hasta que el inóculo llegó a 0.25 de absorbancia (Equivale a 10⁸ UFC/mL), valor que fue usado en la inoculación al ensayo de actividad antimicrobiana.

Preparación de las soluciones:

- Aceite de congona diluido en DMSO
Concentraciones (50 - 100 - 200 uL/mL)
- Antibiótico Gentamicina

Ensayo de difusión en agar:

Se vertió 100uL de cada uno de los inóculos preparados en 2 placas Petri con TSA y se diseminó con la espátula de Digrafsky. Se dejó reposar por 5 minutos, se cortó discos de 6mm de diámetro y se colocó 15uL de las soluciones según se menciona en el siguiente cuadro. Se incubaron las placas a 37°C por 24 horas y transcurrido el tiempo, se realizó la lectura.

Ensayos de inhibición

N. o	Cepa	Aceite de congona diluido en DMSO (uL/mL)			Agua destilada (Control negativo)	Antibiótico Gentamicina (Control positivo)
		50	100	200		
1	<i>E.coli</i> ATCC25922	X	X	X	X	X
2	<i>S.aureus</i> ATCC25923	X	X	X	X	X

Interpretación de resultados

El valor de inhibición se calculó según la siguiente formula:

$$\text{Valor de inhibición: } \frac{\text{Diametro de inhibición (mm)} - \text{Diametro del disco (6mm)}}{2}$$

3.5.5. Formulación de emulsiones

Se elaboraron tres emulsiones dermocosmeticas con el aceite esencial de *Peperomia gallioides* Kunth “congona” a concentraciones de 1, 3 y 10% respectivamente.

Se elaboró la emulsión con un pH 6. Se constituyó de una emulsión O/W (aceite en agua), para la elaboración de las cremas .El vehículo de la emulsión estuvo constituido por:

Agua desionizada, Lanette SX, Vaselina liquida, Palmitato de isopropilo, Carbopol 934, Phenonip, trietanolamida, Tinogard ttt y EDTA.

Luego de su homogenización se realizó la incorporación del aceite esencial en frio.

3.5.6 Evaluación de la actividad fotoprotectora

El FPS se evaluó en el rango de 290 a 320 nm (rango UVB), mas no en el rango UVA ni UVC. Para obtener las muestras diluidas de las formulaciones (0,2 mg/mL), se pesó 1,0 g de las formulaciones y se transfirió a un matraz aforado de 100 ml con 50 mL de etanol, se agitó por 5 minutos, y luego se diluyó a volumen con etanol; se homogenizó y filtró descartando los primeros 10 mL. Una alícuota de 5,0 mL del filtrado se transfirió a un matraz aforado de 50 mL y se diluyó a volumen con etanol. Luego una alícuota de 5,0 mL de la última dilución se transfirió a un matraz aforado de 25 mL y se llevó a volumen con etanol.

$$\text{FPS} = \text{FC} \times \sum_{290}^{320} \times \text{EE} (\lambda) \times I (\lambda) \times \text{Abs} (\lambda)$$

Donde:

FPS = Factor de Protección solar

FC = 10 (factor de corrección)

EE (= Efecto eritemogénico de la radiación de longitud de onda λ)

I (λ) = Intensidad del sol en la longitud de onda λ

Abs (λ) = Absorbancia de la solución en la longitud de onda λ

Las absorbancias de las soluciones fueron determinadas en el rango de 290 a 320 nm, con intervalos de cada 5 nm, utilizando cubetas de cuarzo de 1cm. Los análisis son realizados por triplicado y el FPS es calculado de acuerdo con la ecuación desarrollada por Mansur y col⁶⁵.

Longitud de onda (λ)	290	295	300	305	310	315	320	Total
EE (λ) * I (λ)	0,015	0,0817	0,2874	0,3278	0,1864	0,0839	0,0180	1,00

3.6. Análisis estadístico

Los valores numéricos (absorbancias) de la actividad antioxidante fueron analizados por análisis de varianza de un factor (ANOVA) usando el programa SPSS 23.0 .La medición de las medias diferenciales se determinó de acuerdo con la prueba de rango múltiple Tuckey. Los valores $p < 0.05$, se consideran significativos, además la concentración media inhibitoria CI_{50} . Para la determinación del Factor de Protección Solar se realizaron por triplicado calculando las Desviaciones Estándar.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

4.1. Ensayos preliminares y fisicoquímicos

4.1.1. Rendimiento de la extracción del aceite esencial

Tabla 1 . Rendimiento del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.

Muestra	Cantidad de muestra fresca (Kg)	Cantidad de aceite esencial(mL)	Rendimiento (%) v/p
Partes aéreas de <i>Peperomia galioides</i> Kunth	1,7	4	0,235

4.1.2. Miscibilidad del aceite

Tabla 2. Prueba de miscibilidad del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth.

Solvente	Miscibilidad
Agua	-
Metanol	++
Etanol	+++
n-butanol	++
Propilenglicol	-
Dimetilsulfóxido (DMSO)	+++
Éter etílico	+++
Cloroformo	+++

Leyenda: (+++) miscible; (++) parcialmente miscible; (-) inmisible.

4.1.3 Índice de refracción

Tabla 3. Análisis refractrométrico

Índice de refracción	Promedio y DS
1.535	1,536 ± 0,001
1,537	
1,537	

4.1.4. Densidad relativa

Tabla 4. Densidad relativa del aceite esencial *Peperomia galioides* Kunth a 15°C

Densidad relativa	Promedio y DS
1,0906	1,0914 ± 0,027
1,0944	
1,0891	

4.2. Procedimientos analíticos-experimentales

4.2.1. Composición química del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunt por Cromatografía de Gases

Tabla 5. Análisis por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas CG-MS, mediante inyección líquida

Pico	Componente	Área %	Altura %
1	Propanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.01	0.03
2	3-Penten-2-one, 4-methyl-	0.01	0.04
3	4-Methyl-2-pentyl acetate	0.01	0.03
4	Cyclooctene	0.05	0.17
5	2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl-	0.54	1.78
6	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	0.13	0.43
7	.alpha.-Pinene	0.06	0.11
8	Ethyl tiglate	0.03	0.05
9	.beta.-Phellandrene	0.02	0.03
10	.beta.-Pinene	0.07	0.11
11	1-Octen-3-ol	0.15	0.20
12	3-Octanone	0.16	0.20
13	.beta.-Myrcene	0.30	0.37
14	3-Octanol	0.03	0.05
15	D-Limonene	0.12	0.12
16	Eucalyptol	2.54	2.25
17	1,3,6-Octatriene, 3,7-dimethyl-, (Z)-	0.07	0.06
18	Benzoic acid, methyl ester	0.11	0.14
19	2-Nonanone	0.23	0.30
20	Linalool	0.02	0.03
21	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (2R-cis)-	0.03	0.05
22	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-, (2R-cis)-	0.07	0.12
23	Cyclohexanol, 5-methyl-2-(1-methylethyl)-	0.03	0.06
24	.alpha.-Terpineol	0.05	0.10
25	Benzoic acid, ethyl ester	0.37	0.69
26	Terpinen-4-ol	0.02	0.04
27	.alpha.-Terpineol	0.79	1.50

28	Estragole	0.05	0.11
29	Octanoic acid, ethyl ester	0.05	0.12
30	Benzoic acid, 1-methylethyl ester	0.02	0.04
31	Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-	0.41	0.87
32	2,6-Octadienal, 3,7-dimethyl-, (Z)-	0.06	0.14
33	Citral	0.10	0.20
34	Acetic acid, 3-methyl-6-oxo-hex-2-enyl ester	0.03	0.07
35	Safrole	10.34	13.51
36	2-Dodecanone	0.05	0.13
37	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	0.03	0.08
38	4-Decenoic acid, methyl ester	0.04	0.10
39	cis-4-Decenal	0.00	0.01
40	4-Decenoic acid, methyl ester, Z-	0.02	0.06
41	Cyclohexene, 4-ethenyl-4-methyl-3-(1-methylethenyl)-1-(1-methylethyl	0.04	0.07
42	4-Decenoic acid, ethyl ester, (Z)-	0.04	0.06
43	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, methyl ester	0.29	0.52
44	9,12-Octadecadienoic acid (Z,Z)-	0.12	0.27
45	Decanoic acid, ethyl ester	0.06	0.14
46	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetrame	0.06	0.12
47	1H-Cycloprop[e]azulene, 1a,2,3,4,4a,5,6,7b-octahydro-1,1,4,7-tetrame	0.02	0.04
48	Caryophyllene	0.93	2.16
49	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	0.03	0.06
50	Aromandendrene	0.03	0.07
51	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	0.02	0.04
52	Humulene	0.10	0.25
53	Cyclohexene, 3-(1,5-dimethyl-4-hexenyl)-6-methylene-,	0.04	0.08


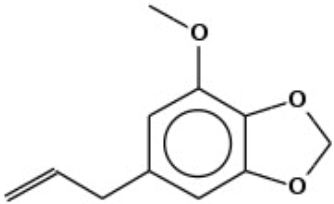
	[S-(R*,S*)]-		
54	.alpha.-Guaiene	0.33	0.75
55	2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester, (E)-	0.54	1.12
56	2,4-Decadienoic acid, ethyl ester, (E,Z)-	0.02	0.06
57	1,3a-Ethano(1H)inden-4-ol, octahydro-2,2,4,7a-tetramethyl-	0.06	0.13
58	Germacrene D	0.50	1.18
59	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethy	4.06	7.95
60	.alpha.-Muurolene	0.01	0.03
61	Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2,4-bis(1-methylethenyl)-, [1S-(1.alp	0.04	0.10
62	.beta.-Bisabolene	0.03	0.04
63	(3S,3aR,3bR,4S,7R,7aR)-4-Isopropyl-3,7-dimethyloctahydro-1H-cyclo	0.01	0.04
64	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-	44.89	24.98
65	1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-	26.31	28.21
66	Citronellyl isobutyrate	0.01	0.04
67	1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)-	0.43	1.01
68	1,6,10-Dodecatrien-3-ol, 3,7,11-trimethyl-	0.18	0.45
69	Ethyl 9-hexadecenoate	0.01	0.02
70	9,19-Cyclolanostan-3-ol, acetate, (3.beta.)-	0.05	0.08
71	(2E,4S,7E)-4-Isopropyl-1,7-dimethylcyclodeca-2,7-dienol	0.07	0.10
72	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-,	0.24	0.53
73	(-)-Globulol	0.13	0.21
74	(1S,2R,5R)-2-Methyl-5-((R)-6-methylhept-5-en-2-yl)bicyclo[3.1.0]hexa	0.00	0.01
75	Ledol	0.02	0.05
76	Stanolone	0.02	0.04

77	Phenol, 2,6-dimethoxy-4-(2-propenyl)-	0.03	0.06
78	1,5-Heptadien-4-ol, 3,3,6-trimethyl-	0.12	0.23
79	1H-Cycloprop[e]azulen-7-ol, decahydro-1,1,7-trimethyl-4-methylene-,	0.03	0.05
80	2-Naphthalenemethanol, 1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-.alpha.,.alpha.,4	0.01	0.03
81	Ledol	0.04	0.06
82	1,5-Heptadien-4-ol, 3,3,6-trimethyl-	0.03	0.05
83	.alpha.-Bisabolol	2.67	3.75
84	Ethanone, 1-(4-cyclohexylphenyl)-	0.10	0.15
85	Heneicosane	0.02	0.06
86	Heneicosane	0.01	0.02

Tabla 6. Análisis por Cromatografía de Gases acoplado a Espectrómetro de Masas CG-MS, mediante inyección por Headspace.

Pico	Componente	Área %	Altura %
1	Cyclooctene	4.41	3.83
2	Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester	9.16	7.69
3	Alpha-pinene	4.39	3.67
4	Beta-pinene	2.66	2.23
5	Beta-Myrcene	9.04	6.77
6	D-Limonene	1.72	1.68
7	Eucalyptol	46.47	28.1
8	Benzoic acid, ethyl ester	0.49	1.0
9	Alpha-terpineol	1.34	2.36
10	Pulegone	0.68	1.47
11	Safrole	8.35	16.83
12	Caryophyllene	0.96	2.09
13	1,5-cyclodecadiene,1,5-dimethyl-8-(1-methylethy)	1.98	4.24
14	1,3-benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-	8.34	18.02

Tabla 7. Componentes mayoritarios del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona”

Aceite esencial de <i>Peperomia</i> <i>galioides</i> Kunth “Congona”	Componente principal	
	Análisis de componentes volátiles (HS)	Análisis de componentes no volátiles (LS)
	Eucalyptol 	1,3-benzodioxole,4-methoxy-6-(2-propenyl) 

3.5.4. Capacidad antioxidante total empleando el radical DPPH

Tabla 8. Capacidad antioxidante del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth por el método de DPPH

Concentración del aceite (% V/V)	Concentración del aceite (mg/mL)	Absorbancia	Inhibición (%) DPPH	CI 50 (mg/mL)
0	0	0,453 ± 0,0079	0	66,4887
0,8333	9,095	0,4225 ± 0,0048	6,7403	
1,6667	18,19	0,3823 ± 0,0074	15,6144	
3,3333	36,38	0,3276 ± 0,0067	27,6821	
4,1667	45,475	0,2978 ± 0,0028	34,2531	
6,6667	72,76	0,2065 ± 0,0104	54,4077	

Tabla 9. Capacidad antioxidante del estándar Trolox[®] por el método de DPPH

Concentración del Trolox (µg/mL)	Absorbancia	Inhibición (%) DPPH	CI 50 (µg/mL)
0	0,4884 ± 0,0042	0	2,7901
1	0,3887 ± 0,007	20,415	
2	0,3095 ± 0,007	36,6187	
3	0,2286 ± 0,0091	53,1977	
4	0,1426 ± 0,0042	70,7938	

La CI₅₀ para el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona” fue de 66,4887 mg/mL y para el estándar 2,7901 µg/mL. El valor TEAC fue 0,04196 µg Trolox/mg muestra para el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona”

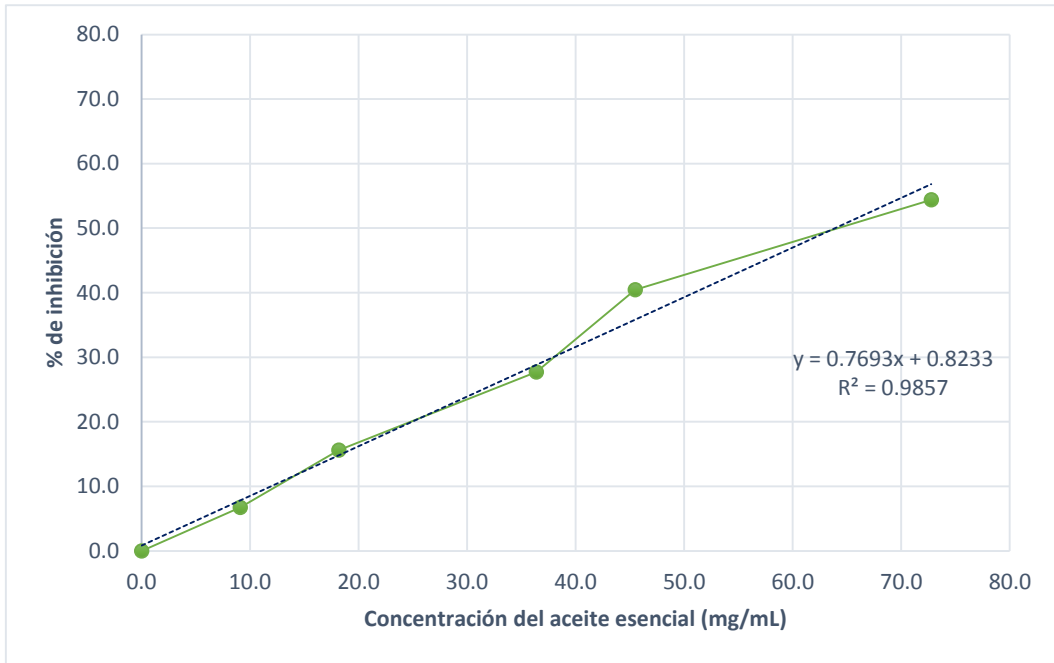


Figura 12. Gráfica de dispersión del % inhibición del radical DPPH vs concentración de aceite esencial

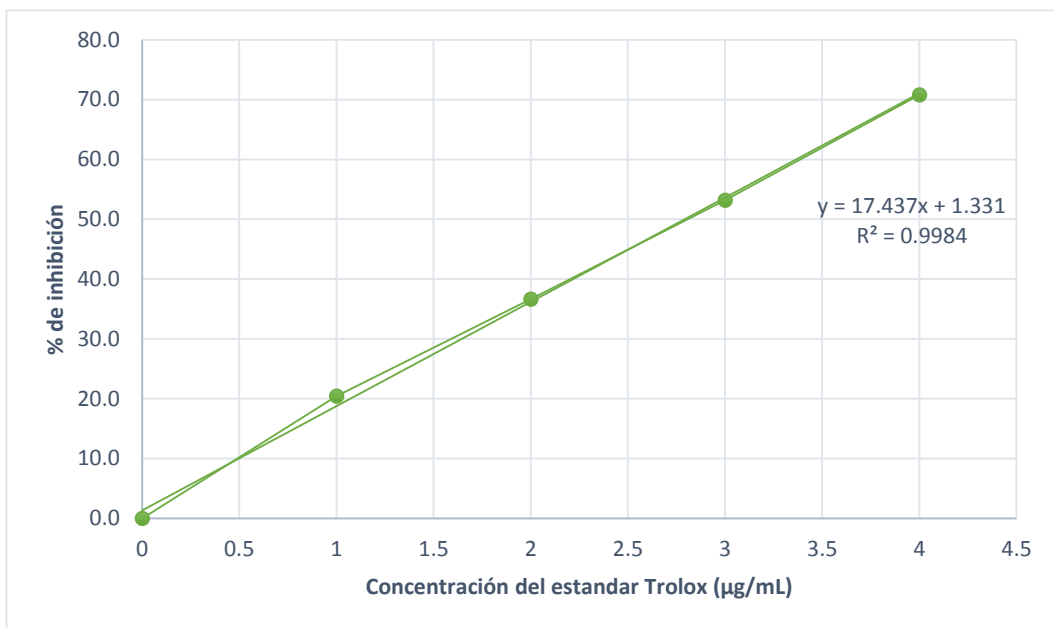


Figura 13. Gráfica de dispersión del % inhibición del radical DPPH vs las concentraciones del estándar Trolox®.

4.2.3. Capacidad antioxidante empleando el radical ABTS^{•+}

Tabla 10. Capacidad antioxidante del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth por el método de ABTS.

Concentración del aceite esencial (% V/V)	Concentración del aceite (mg/mL)	Absorbancia	Inhibición (%) ABTS ^{•+}	CI 50 (mg/mL)
0	0	0,6944 ± 0.0063	0	2,7541
0,0453	0,4945	0,6143 ± 0.0082	11,5351	
0,0906	0,9891	0,5418 ± 0.0085	21,9710	
0,1813	1,9782	0,4208 ± 0.0042	39,4057	
0,3625	3,9563	0,2176 ± 0.0104	68,6588	

Tabla 11. Capacidad antioxidante del estándar Trolox[®] por método de ABTS.

Concentración del Trolox (µg/mL)	Absorbancia a 734 nm	Inhibición (%) ABTS ^{•+}	CI 50 (µg/mL)
0	0,6736 ± 0,0020	0	5,2914
1	0,6228 ± 0,0021	7,5416	
2	0,539 ± 0,0046	19,9822	
3	0,4872 ± 0,0157	27,6722	
4	0,4071 ± 0,0082	39,0538	
6	0.2967 ± 0,0069	55,9580	

La CI₅₀ para el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona” fue de 2,7541 mg/mL y para el estándar 5,2914 µg/mL. El valor TEAC fue 1,9213 µg Trolox/mg muestra para el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona”

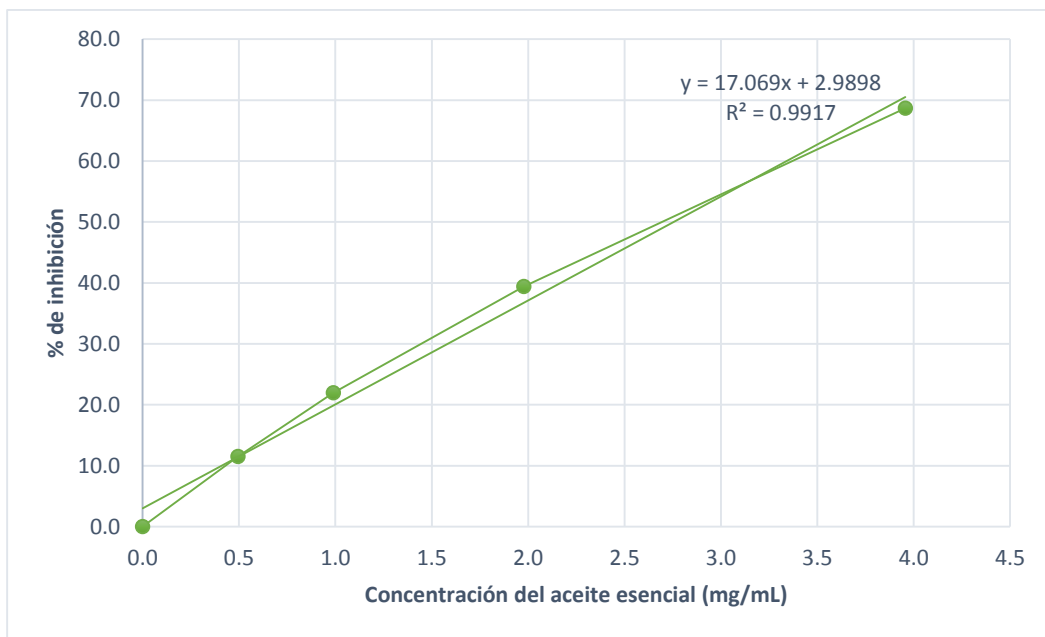


Figura 14 . Gráfica de dispersión del % inhibición del radical ABTS vs concentración de aceite esencial

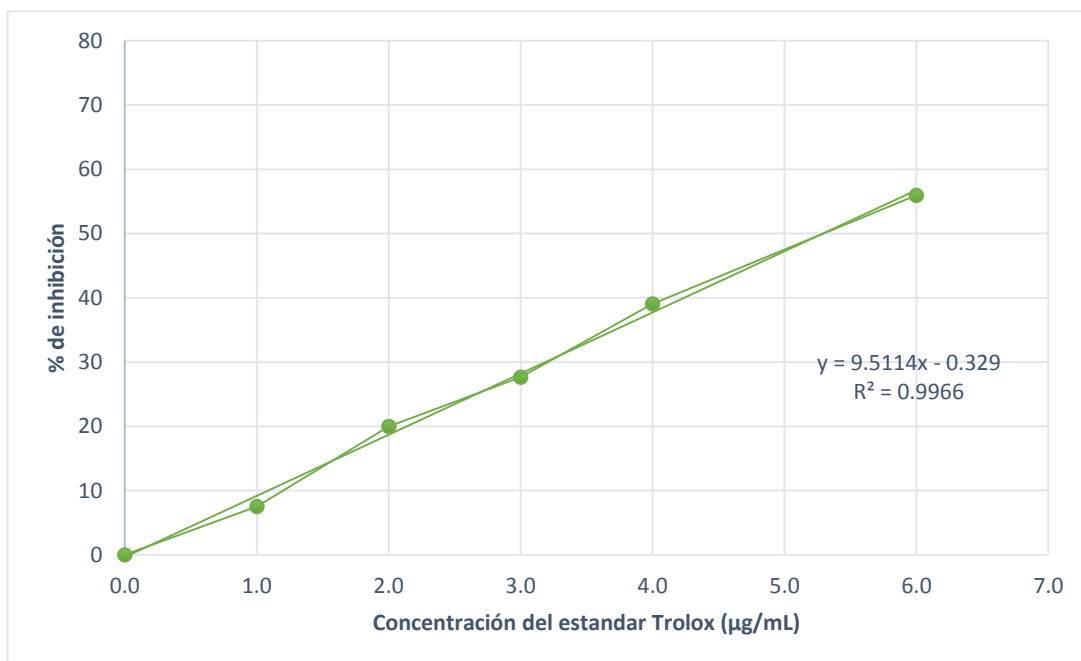


Figura 15. Gráfica de dispersión entre el estándar Trolox® versus % de inhibición del radical ABTS^{•+}.

4.2.4. Actividad antibacteriana

a) Método de microdilución

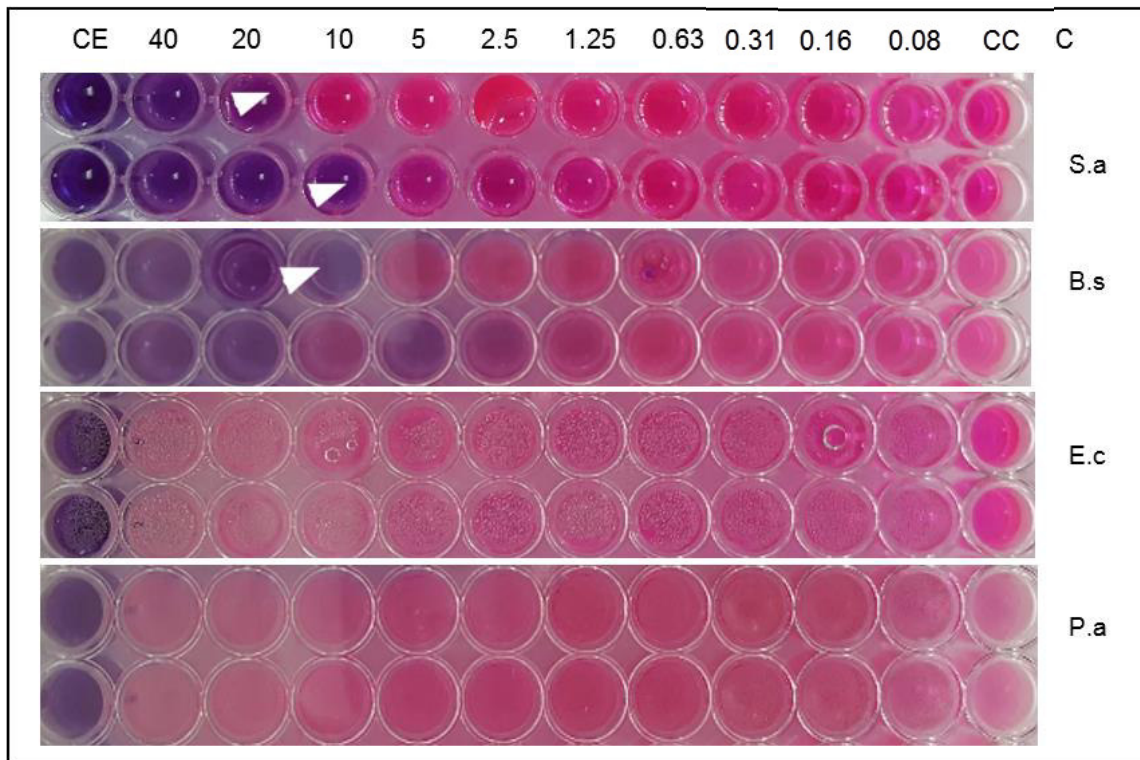


Figura 16. CMI del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth frente a cuatro microorganismos

Leyenda: *S.a* (*Staphylococcus aureus* ATCC25923), *B.s* (*Bacillus subtilis* ATCC6633), *E.c* (*Escherichia coli* ATCC 25922), *P.a* (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027), C.E (Control de esterilidad), C.C (Control de crecimiento).

Tabla 12. Concentración mínima inhibitoria (CMI) del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth frente a cuatro microorganismos.

Microorganismos		CMI (µL/mL)
Gram positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20
	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	10
Gram negativas	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	>40
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	>40

b) Método por difusión en Agar

Tabla 13. Valores de inhibición de las diluciones del aceite de congona frente a las cepas *S.aureus* ATCC25923 y *E.coli* ATCC25922.

Ensayo	Aceite de congona diluido en DMSO	
<i>S.aureus</i> ATCC25923	Gentamicina	17
	50 uL/mL	0
	100 uL/mL	2
	200 uL/mL	3
	Agua destilada	0
<i>E.coli</i> ATCC25922	Gentamicina	14
	50 uL/mL	1.5
	100 uL/mL	2.5
	200 uL/mL	3
	Agua destilada	0

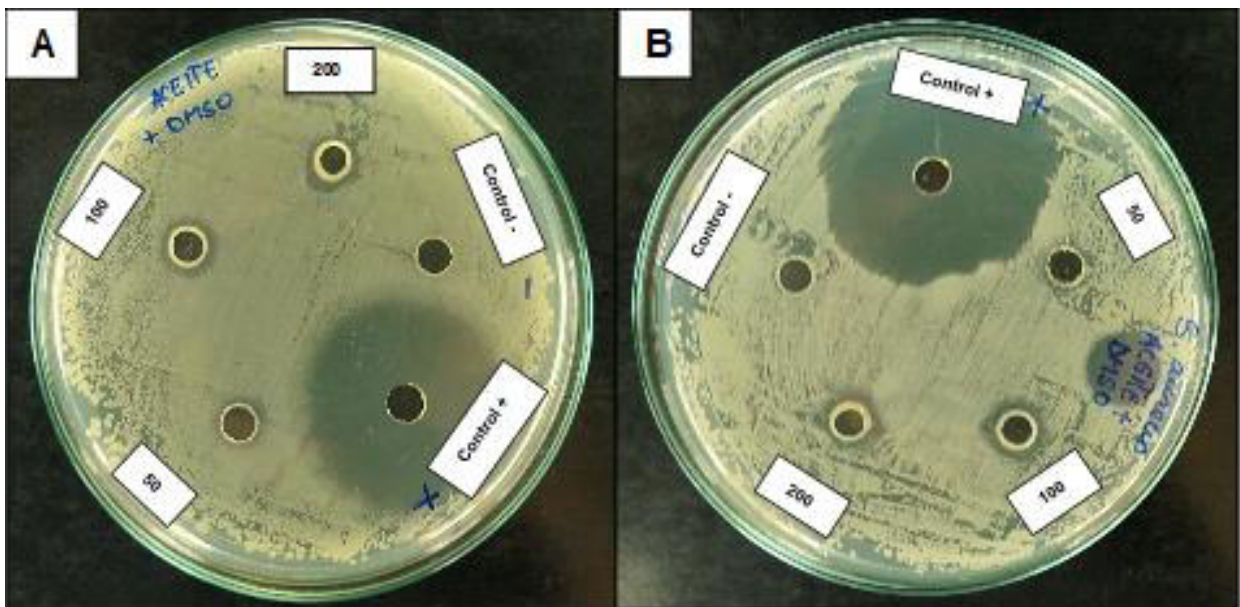


Figura 17. Resultados de ensayos de inhibición con soluciones a diferentes concentraciones (50-100-200 uL/mL) A) *E.coli* con aceite de congona diluido en DMSO B) *S.aureus* con aceite de congona diluido en DMSO

Tabla 14. Valores de inhibición de las soluciones de las diluciones del aceite de congona frente a las a las cepas de *P.aeruginosa* y *S.epidermidis*

Ensayo	Aceite de congona diluido en DMSO	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gentamicina	12.5
	50 uL/mL	0
	100 uL/mL	0
	200 uL/mL	0.5
	Agua destilada	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Gentamicina	12.5
	50 uL/mL	1
	100 uL/mL	1
	200 uL/mL	1.5
	Agua destilada	0

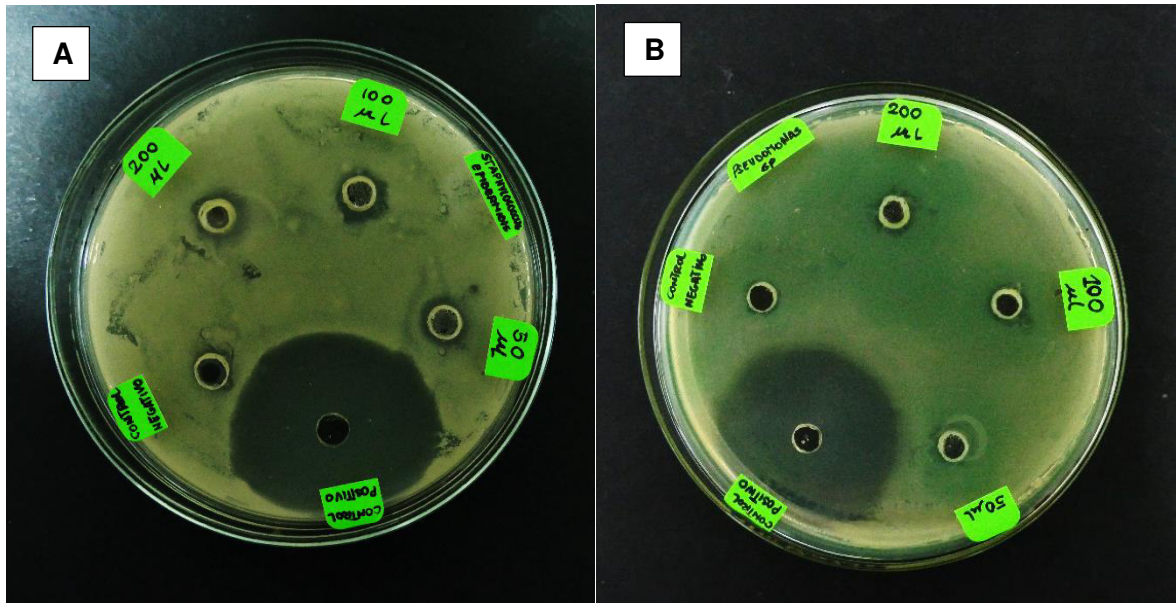


Figura 18. Resultados de ensayos de inhibición con soluciones a diferentes concentraciones (50-100-200 uL/mL). A) *S. epidermidis* con aceite de congona diluido en DMSO. B) *P. aureginosa* con aceite de congona diluido en DMSO.

4.2.5. Características de la formulación

Tabla 15. Características organolépticas de las formulaciones elaboradas con el aceite esencial de *Pepermia galioides*

	Base	Formulación al 1%	Formulación al 5%	Formulación al 10%
Aspecto	Uniforme	Uniforme	Uniforme	Uniforme
Color	Blanco	Blanco	Blanco	Blanco
Olor	Ceras	Característico al aceite	Característico al aceite	Característico al aceite

Tabla 16. Determinación del pH de la base y formulaciones con el aceite esencial de *Pepermia galioides*

	Base	1%	5%	10%
pH	5,98	6,2	6,4	6,65

4.2.6. Evaluación de la actividad fotoprotectora

Tabla 17. Evaluación de la actividad fotoprotectora de la base emulsiva.

Longitud de Onda (nm)	EE x I	Base emulsiva		
		C1	C2	C3
290	0.015	0.0017	0.0024	0.0022
295	0.0817	0.0096	0.0132	0.0123
300	0.2847	0.0325	0.0450	0.0421
305	0.3278	0.0361	0.0495	0.0472
310	0.1864	0.0199	0.027	0.0267
315	0.0839	0.0088	0.0119	0.0117
320	0.018	0.0019	0.0025	0.0025
	FPS	0.1104	0.1515	0.1448
	PROMEDIO	0.1356	D. S	0.022

Tabla 18. Capacidad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética de aceite de *Peperomia galioides* Kunth al 1%

Longitud de Onda (nm)	EE x I	Formulaciones (absorbancia) 1%		
		C1	C2	C3
290	0.015	0.188	0.1881	0.1892
295	0.0817	0.1526	0.1536	0.1608
300	0.2847	0.1202	0.1195	0.1133
305	0.3278	0.096	0.0956	0.095
310	0.1864	0.081	0.0802	0.0842
315	0.0839	0.0723	0.0731	0.0831
320	0.018	0.0688	0.0677	0.0819
	FPS	1.037	1.0335	1.0382
	PROMEDIO	1.0363	D. S	0.0024

Tabla 19. Capacidad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética de aceite de *Peperomia galioides* Kunth al 3%.

Longitud de Onda (nm)	EE x I	Formulaciones (absorbancia) 3%		
		C1	C2	C3
290	0.015	0.2046	0.2054	0.2052
295	0.0817	0.1585	0.1593	0.1581
300	0.2847	0.1201	0.1215	0.1234
305	0.3278	0.1028	0.1033	0.1011
310	0.1864	0.087	0.084	0.0821
315	0.0839	0.0784	0.0782	0.0783
320	0.018	0.075	0.071	0.0783
	FPS	1.0838	1.0837	1.0788
	PROMEDIO	1.0821	D.S	0.0028

Tabla 20. Capacidad fotoprotectora de la emulsión dermocosmética de aceite de *Peperomia galioides* Kunth al 10%.

Longitud de Onda (nm)	EE x I	Formulaciones (absorbancia) 10%		
		C1	C2	C3
290	0.015	0.2879	0.2781	0.2876
295	0.0817	0.2092	0.12198	0.2279
300	0.2847	0.1524	0.1436	0.1501
305	0.3278	0.1152	0.1201	0.116
310	0.1864	0.0962	0.0978	0.0998
315	0.0839	0.0867	0.0854	0.0869
320	0.018	0.0812	0.0826	0.0942
	FPS	1.2964	1.2926	1.2958
	Promedio	1.2958	D. S	0.0029

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

Peperomia galioides kunth. es una especie nativa del Perú, pero puede encontrarse a lo largo de la región tropical mexicana, en países de América Central y distribuida en las regiones cálidas del Brasil. Actualmente cuenta con 8 variantes infraespecíficas identificadas desde el año 1816, las variedades son: *aromatica* C.DC, *crassispica* C.DC, *glauc*a Pino, *longifolia* C.DC, *menkeana* (Miq.) C.DC, *minutifolia* C.DC, *nigropunctulata* C.DC, *saxicola* C.DC y una variante infragenérica, *Peperomia inaequalifolia* var. *galiolides* (Kunt) Pino, es importante resaltar que según “The International Plant Names Index” (IPNI) y “World Checklist of Selected Plant Families” reportan 36 sinónimos para especie botánica la cual es materia de investigación⁶⁶⁻⁶⁷.

La muestra problema se obtuvo mediante destilación por arrastre a vapor de agua, a partir de las partes aéreas frescas de *Peperomia galioides* kunth, procedente de la provincia de Payasca, distrito Huacaschuque del departamento de Ancash. El método ejecutado en nuestra investigación es el más utilizado para la obtención de aceites esenciales debido a su bajo costo de implementación, aunque existe la pérdida de componentes de naturaleza polar y semipolar en la fracción acuosa⁶⁸. La destilación presentó un rendimiento de 0,235% p/v a partir de 1 700 gramos del material vegetal. Saez⁸ en el año 2018 reportó una rendimiento de 0,29% p/v para *Peperomia congona* Sodiro, el cual es muy similar al valor de la presente investigación, sin embargo Guerrreo⁴ reportó un rendimiento inferior para *Peperomia galioides* HBK equivalente a 0,08% p/v; esta disminución podría deberse a la diferencias respecto a la ubicación del material vegetal, la cual se realizó en el departamento de Apurímac presentando condiciones climáticas diferentes a las del departamento de Ancash, además es importante establecer los diferentes estadios de recolección de la planta (hojas jóvenes o adultas y época de floración).

La densidad relativa del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. fue de 1,0914 g/mL \pm 0,027 siendo mayor a la especie de *Peperomia inaequalifolia* evaluada por Coronel y Piedra⁷⁰, quienes reportaron una densidad específica de 1,0308 g/mL \pm 0.0012, esta

diferencia radicaría en la presencia de componentes de mayor peso molecular en la especie *galioides*.

La elucidación estructural del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. fue realizada mediante la técnica de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG/MS), utilizándose dos sistemas de inyección, la inyección líquida y Headspace, con la finalidad de reconocer componentes no volátiles y volátiles, respectivamente.

Mediante la inyección de tipo líquida se identificaron 86 componentes químicos, los cuales se muestran en la tabla 5. Los principales metabolitos fueron 1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)- (71,2%), safrole (10,34%) y Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)- (4,06%), los cuales representan el 85,6% del contenido total, en comparación a un estudio realizado por Guerrero en aceite esencial de la misma especie, reportó 66 componentes químicos destacando a los siguientes metabolitos mayoritarios globulol (23,1%), oxido de cariofileno (8,6%) , limoneno (8,5%), alpha-bisabolol (2,67%) y eucalyptol (2,54%)⁴.

Di Leo Lira, evaluó los componentes químicos del aceite esencial de las partes aéreas de dos especies de *Peperomia*; *Peperomia galioides* H.B.K. y *Peperomia chahuapquiiana* en muestra fresca (MF) y desecada (MD). Fueron identificados 72 compuestos en *Peperomia galioides* H.B.K., siendo los componentes principales el beta-cariofileno al 13,1% en MF y 16,0% en MS, alfa-humuleno al 13,2% en MF y 17,3% MS y epi-alfa-bisabolol al 15,1% en MF y 21,3% en MS. En el caso de *Peperomia chahuapquiiana*, se encontraron 42 compuestos químicos, presentando como componentes mayoritarios al sabineno al 31% en MS y 20.5% en MF, criptona al 8,7% en MS Y 8,5% en MF y oxido de cariofileno al 10,2% en MS y 8,8 en MF¹.

Se realizó un estudio de las propiedades físicas y composición química del aceite esencial de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* Ruiz & Pav, mediante CG/MS, identificando al safrol y palmitato de isopropilo y miristicina como componentes mayoritarios al 27,632; 20,936; 14,956%, respectivamente⁶⁹.

En la inyección de tipo Headspace se identificaron 14 componentes volátiles, indicados en la tabla 6. Los componentes mayoritarios fueron el eucalyptol (46,47%); butanoic acid, 2-methyl-,ethyl-ester (9,16%) ; safrole (8,35%) y 1-3 benzodioxole,4-methoxy-6-(2-propenyl) al 8,34%.

Se evaluó la capacidad antioxidante del aceite esencial de las partes aéreas de *Peperomia galiodes* Kunth, mediante el método de DPPH, presentando un CI_{50} de 66,4887 mg/mL y el estándar Trolox presente un CI_{50} de 2,701 ug/mL.

Okoh y col. evaluaron la actividad antioxidante mediante el uso del radical DPPH del aceite esencial de la especie *Peperomia pellucida* (L.) Kunth, a partir de las hojas y tallos, con valores de CI_{50} de $1,67 \pm 0,01$ y $2,82 \pm 0,11$ mg/mL, respectivamente. Paralelamente, Mohamad y col. evaluaron la misma actividad con el extracto metanólico de *Peperomia pellucida* (L.) Hbk., con un valor de CI_{50} equivalente a $2,45 \pm 0,20$ mg/mL⁷⁰⁻⁷¹.

Además, una investigación desarrollada por Salinas y Lezama reportó un CI_{50} de 20,36 mg/mL a partir de las concentraciones de 5,29 ; 10,58 y 26,45 mg/mL, del aceite esencial de hojas de *Peperomia dalobriiformis* Kunth. provenientes del departamento de La Libertad⁷².

El ensayo de eliminación del radical DPPH se basa en la premisa de que una sustancia antioxidante dona un átomo de hidrógeno o un electrón y su propiedad se demuestra contra el radical DPPH, evidenciándose cambios de color púrpura a amarillo con la formación de DPPH-H. Sin embargo, el modelo DPPH no es una prueba específica de especies radicales sino de radicales generales, evaluando su potencia como antioxidante⁷³⁻⁷⁴.

El segundo ensayo para determinar la capacidad antioxidante fue del radical catiónico ABTS, el aceite esencial de las partes aéreas *Peperomia galiodes* Kunth presento un CI_{50} de 2,7541 mg/mL y para el estándar Trolox un CI_{50} de 5,2914 ug/mL.

Okhol y col, evaluaron la actividad antioxidante mediante el ensayo del radical catiónico ABTS del aceite esencial de la especie vegetal de *Peperomia pellucida* (L.) Kunth con valores de CI₅₀ de 1,94 y 2,34 mg/mL para hojas y tallos respectivamente ⁷⁰.

El ensayo del radical catiónico ABTS se decolora completamente del color azul, característica de una solución oxidante a una solución incolora, convirtiéndose en moléculas neutras de ABTS. La importancia de los mencionados ensayos radica que el radical DPPH se usa en condiciones alcohólicas, facilitando la solubilidad de componentes apolares y de mediana polaridad, el ABTS se prepara en condiciones acuosas favoreciendo la solubilidad de componentes de elevada polaridad y moderada polaridad. Además se debe tener en cuenta que los compuestos bioactivos no pueden ser solubles en los medios de reacción impidiendo la expresión de actividades de eliminación de radicales. Las potencias antioxidantes de los ensayos son diferentes debido al tiempo de reacción, el ensayo del radical catiónico es de ABTS es de 7 minutos y el del radical DPPH de 30 min, además la cinética de reacción dependerá del tipo, cantidad e interacción (antagonismo o sinergismo) de los metabolitos evaluados ⁷⁵.

En nuestra investigación, mediante el método de microdilución, se observó una baja actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas, con concentraciones mínimas inhibitorias (CMI) de 20 uL/mL y 10 uL/mL para *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Bacillus subtilis* ATCC 6633, respectivamente. La actividad antibacteriana en bacterias Gram negativas no presentó actividad significativa, evidenciándose concentraciones mínimas inhibitorias mayores a 40 uL/mL para *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

Una observación similar se notó en una investigación del aceite esencial de *Peperomia galioides* H.B.K con CMI de 25 y 50 µg/mL para *Bacillus subtilis* ATCC 6633 y *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, respectivamente ⁴. En *Escherichia coli* ATCC 25922 mostró mayor resistencia a la inhibición del aceite esencial con CMI 100 ug/mL y para el caso de *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 no se observó actividad alguna sobre ellas con CMI mayor a 100 ug/mL ⁴.

Okoh y col, reportó concentración mínimas inhibitoria (CMI) para *Staphylococcus aureus* NCINB 50080 de 0,2 mg/mL para el aceite esencial de hojas y aceite esencial de tallos de *Peperomia pellucida* (L.) Kunth ⁷⁰.

En otra investigación se reportó que la actividad antibacteriana del extracto metanólico de *Peperomia galioides* inhibió el crecimiento de *S. aureus* y *S. epidermidis* a concentraciones menores de 1 mg/mL ⁷⁶.

Mediante el método que hemos aplicado de difusión en agar, el aceite de congona presenta cierta actividad antimicrobiana contra *Escherichia coli* ATCC 25922, además, presenta actividad nula frente a *Pseudomonas aeruginosa*, en cambio contra *Staphylococcus aureus* ATCC25923 presenta una ligera actividad, notándose al contrastar los valores de inhibición del control positivo.

Por su parte Rossi también encuentra actividad antimicrobiana de la congona para *S. aureus* ATCC 6538 en extracto metanólico (9-13 mm). y en extracto acuoso (7-8 mm), para *S. epidermidis* ATCC 12229 en extracto metanólico (9-13 mm) y en extracto acuoso (6 mm,) en tanto que para *E. coli* ATCC 8739 y *P. aeruginosa* en extracto metanólico y en extracto acuoso no presenta halos de inhibición ⁷⁷.

Los componentes bioactivos Limoneno, α – pineno, Linalol, B-caryophilleno, , α -humuleno, encontrados en el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth que hemos investigado, serían los responsables de las actividades antioxidante y antibacteriana, porque actuarían en sinergismo, potenciando su actividad antirradicalaria y su capacidad de inhibición del crecimiento bacteriano, como se sustenta en los trabajos de otros investigadores en diferentes especies⁷⁸⁻⁸¹ .

Se evaluó la actividad fotoprotectora *in vitro* UVB de una forma dermocosmética con el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. a concentraciones de 1, 5 y 10%, con valores de Factor de Protección Solar (FPS) de 1,037; 1,094; 1,296 respectivamente a las concentraciones anteriormente mencionadas. Davila obtuvo valores de FPS mayores a los de nuestra investigación en las emulsiones dermocosméticas con el aceite esencial de *Citrus medica* L a concentraciones de 1, 3, 5 y 10% con valores de 5,6; 6,1; 6,1 y 6,2 respectivamente ⁶.

Valores inferiores fueron reportados por Escudero y Culquimboz al evaluaron el Factor de Protección Solar de una crema a partir del extracto de *Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V.M. Badillo a concentraciones de 1, 3 y 5% con valores de FPS de $0,4428\% \pm 0,0003$; $0,5565\% \pm 0,0008$ y $0,5892\% \pm 0,0002$ respectivamente. Estos valores de FPS son similares a los obtenidos por Medina y Echaíz en las cremas a partir de extracto del tubérculo *Dioscorea trifida* L.f. a concentraciones de 1, 3 y 5% con FPS de 0,4421; 0,4458 y 0,4568^{7, 82}.

Según la clasificación realizada por COLIPA, se considera a los fotoprotectores con FPS entre 2 a 6 ; 8 a 12; 15 a 25, 30 a 50 y < 50 como bajo, medio, alto, muy alto y ultra, respectivamente⁸³.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

- En el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. se identificaron 86 componentes mediante el análisis de componentes no volátiles (Inyección líquida), de los cuales 5 fueron los componentes mayoritarios: 1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)- al 71,2%; safrole al 10,34%; cyclohexane,1-ethenyl-1-methyl-2-1(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene) al 4,06%; eucalyptol al 2,54% y alpha-bisabolol al 2,67%.
- En el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. se identificaron 14 componentes mediante el análisis de componentes volátiles (Headspace), de los cuales 3 fueron componentes mayoritarios: eucalyptol al 46,47%; butanoic acid, 2-methyl-,ethyl-ester al 9,16% y safrole al 8,35%.
- El aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth mostró baja actividad antioxidante en relación al estándar Trolox, con valores de capacidad antioxidante equivalente al Trolox (TEAC) de 1,9213 y 0,04196 μg Trolox/mg de aceite mediante los métodos de ABTS y DPPH, respectivamente.
- El aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth mostró una moderada actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas y baja actividad antibacteriana frente a bacterias Gram negativas.
- Las formulaciones dermocosméticas elaboradas con el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth. presentan un bajo Factor de Protección Solar.

CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES

- Desarrollar el fraccionamiento y aislamiento de los componentes del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth, y evaluar las actividades antioxidantes y antibacterianas a fin de determinar si existe un efecto sinérgico o inhibitorio entre sus componentes mayoritarios y minoritarios.
- Evaluar la estabilidad de las formulaciones dermocosméticas elaboradas, a fin de buscar un medio ideal para la incorporación de los componentes naturales del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth con posibles efectos terapéuticos.
- Realizar estudios *in vivo* para corroborar las propiedades evaluadas en modelos experimentales con el aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth
- Investigar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth frente a otras bacterias evaluando sus concentraciones mínimas bactericidas y concentraciones mínimas inhibitorias.

CAPÍTULO VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Di Leo Lira, Yoni Farfan, y col. Composition of the essential oil two *Peperomia* from Peru: *P. galioides* and *P. chahuapuyana* Rev. Latinoamer. Quim, 2007; 35(1):7-12.
2. Robayo-Gama P, Quijano C y col. Composition of the Essential Oil From Leaves of *Peperomia galioides* HBK Grown in Colombia. Journal of Essential Oil Research. 2010;22(4): 307–309 .
3. Neto Owens, Langgfield y col. Antibacterial activity of some Peruvian medicinal plants from the Callejon de Huaylas. Journal of Ethnopharmacology. 2002;79(1) 133-138 .
4. Guerrero J. Composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de la *Peperomia galioides* H.B.K. Tesis para optar la Licenciatura en Química. Universidad Nacional de Ingeniería. Lima, 2008.
5. Wei Lee Seong, Wee W, Fu Siong y col. Caracterización de Propiedades Anticáncer, Antibacterial, Antioxidante y composición química del Extracto de las hojas de *Peperomia pellucida*, Acta Médica Iránica. 2011;49(10): 670-674
6. Dávila, W., Actividad fotoprotectora in vitro del aceite esencial de *Citrus medica*. Frente a la radiación UVB y elaboración de una emulsión dermocosmética. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2018.
7. Culquimboz, L., Escudero J., Evaluación in vitro de la actividad antioxidante, antielastasa y anticlagenasa en el extracto etanólico del fruto de *Vasconcellea weberbaueri* (Harms) V. M. Badillo y determinación de la actividad fotoprotectora in vitro en una crema base. Tesis para optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2018.

8. Saez Ricaldi. Efecto de la concentración del aceite esencial de las hojas de *Peperomia congona* Sodiro (*congona*) sobre su actividad antimicrobiana. Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Alas Peruanas. Lima, 2018.
9. Flores Zurita. Actividad antibacteriana deñ extracto hidroalcohólico del Bellaco caspi (*Himathantus sucuuba*) y la Congona (*Peperomia galioides*). Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Alas Peruanas. Lima, 2015.
10. Certificación de Identificación Botánica por el Consultor Botánico José Ricardo .Campos de la Cruz C. B. P. N° 3796 .
11. Gamarra Gómez P. Estudio etnobotánico del distrito de Marca, Recuay - Ancash. Tesis para optar al título de Magister en Botánica Tropical. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2012.
12. Pino Infante G. Estado actual de las Suculentas en el Perú. Zonas Aridas. 2006; 10(1):155-173.
13. Brako L, Zarucchi J. Catálogo de las angiospermas y gimnospermas del Perú. 10^{ma} ed. Missouri: Missouri Botanical Garden; 1993.
14. Vergara Rodriguez y col. Diversity, Distribution, and Conservation Status of *Peperomia* (Piperaceae) in the State of Veracruz, Mexico. Tropical Concervation Science. 2017;10(1);1-28.
15. De Feo, V. Medicinal and magical plants in the northern Peruvian Andes. Fitoterapia. 1992; 63(1): 417-440.
16. Hammond GB, y col. A survey of traditional medicinal plants from the Callejon de Huaylas, Department of Ancash, Peru. Journal of Ethnopharmacology. 1998;61(1):17–30.
17. Villegas LF, Marcalao A, Martin J, Maldonado H. (+)-*epi*-Alpha-bisabolol [correction of bisbolol] is the wound-healing principle of *Peperomia galioides*:

investigation of the in vivo wound-healing activity of related terpenoids. *Journal of Natural Products*. 2001;64(1): 1359-1367.

18. Fournet A, Ferreira ME, Rojas Arias A. In vitro and in vivo leishmanicidal studies of *Peperomia galioides* (Piperaceae). *Phytomedicine*.1996;3(3); 271-275.

19. Langfield RD y col. Use of a modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in the Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. *Ethnopharmacol*. 2004;94 (2-3):279-81.

20. Sirousmehr A, Arbabi J, Asgharipour MR. Effect of drought stress levels and organic manures on yield, essential oil content and some morphological characteristics of sweet basil (*Ocimum basilicum*). *Adv. Environ. Biol.*, 2014;8(4); 880–886.

21. Tisserand R, Young R. *Essential Oil Safety: A Guide for Health Care Professionals*. Elsevier HealthSciences, United Kingdom, 2013.

22. Crude Fat Determination - Soxhlet Method. Meat technology- Information Sheet. 2006.

23. Dugo G, Di Giacomo A. *The Genus Citrus*. Taylor Francis Publishing, London, 2002.

24. Naves YR,. *Technologie et Chimie des Parfums Naturels*. Masson. Paris, 1974.

25. Khajeh M, Yamini Y, Bahramifar N, Sefidkon F, Mohammad R, y col. Comparison of essential oils compositions of *Ferula assa-foetida* obtained by supercritical carbon dioxide extraction and hydrodistillation methods. *Food Chem*. 2005; 91(1): 639–644.

26. Lang QY, Wai CM. Supercritical fluid extraction in herbal and natural product studies—a practical review. *Talanta* . 2001;53(1): 771–782.

27. Chen F, Sun Y, Zhao G, Liao X, Hu X, Wu J, Wang Z. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins

in extract using high-performance liquid chromatography mass-spectrometry. *Ultrasonics Sonochem.* 2007;14(1): 767–778.

28. Huie CW. A review of modern sample preparation techniques for the extraction and analysis of medicinal plants. *Anal Bioanal Chem.* 2002; 373(1-2), 23–30.

29. Lucchesi ME, Smadja J, Bradshaw S, Louw W, Chemat F. Solvent free microwave extraction of *Eletaria cardamomum* L. A multivariate study of a new technique for the extraction of essential oil. *J. Food Eng.* 2007;79(3): 1079–1086.

30. SOLOMONS TWG. *Química Orgánica*. 3^{ra} Ed. México: Limusa Wiley, 2014.

31. Gutierrez, MC, Droguet M. Identificación de compuestos volátiles por GC-MS. *Boletín Intexter (U.P.C.) Universidad Politécnica de Catalunya Barcelona TECH*, N^o 122, 2002.

32. Skoog DA, Holler FJ, Crouch RS, *Principios de Análisis Instrumental*, 6ta Ed. Mexico, 2008.

33. Almerco JA, Desarrollo y validación de un método analítico de cromatografía líquida de ultra alta eficiencia acoplada a espectrometría de masas para la determinación de clonazepan en plasma humano. Tesis para Optar el Título de Químico Farmacéutico. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima, 2013.

34. Aslan R. Antioxidant Safety and Antioxidant-induced Stress. *Kocatepe Veterinary Journal.* 2018;11(4):491-496.

35. Grune T, Bartosz G. *Oxidants and antioxidant defense systems*. 1st ed. Berlin: Springer; 2005.

36. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical Reviews in Toxicology* 1993;23(1): 21–48.

37. Kehrer JP y Smith CV. Natural antioxidants in human health and disease, 1 edicion, Academic Press. 1994. pp, 25–62.
38. O'Brien PJ. Comprehensive Toxicology. Chemico-Biological Interactions 2000; 129(1): 113–139.
39. Ray PD, Huang BW y Tsuji Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. Cellular Signalling 2012; 24(1): 981–990.
40. Roelandts R. History of human photobiology. In: Lim HW, Honigsmann H, and Hawk JLM Photodermatology. New York: Informa Healthcare. 2007.
41. Diffey BL y Kochevar IE. Basic principles of photobiology. Photodermatology. New York: Informa Healthcare, 2007.
42. Kullavanijaya P y Lim HW. Photoprotection. Journal of the American Academy of Dermatology. 2005; 52(6): 937–958.
43. Lautenschlager S, Wulf HC, y Pittelkow MR. Photoprotection. Lancet 2007; 370(9586): 528–537.
44. Idorn LW, Datta P, Heydenreich J, Philipsen PA, and Wulf HC. A 3-year follow-up of sun behavior in patients with cutaneous malignant melanoma. JAMA Dermatology 2014;150(2): 163–168.
45. Bierowiec K, Płoneczka-Janeczko K, Rypuła K. Is the colonisation of Staphylococcus aureus in pets associated with their close contact with owners? PLoS One. 2016; 11(5): 52-59.
46. Brown AF, Leech JM, Rogers TR, McLoughlin RM. Staphylococcus aureus colonization modulation of host immune response and impact on human vaccine design. Front. Immunol. 2013;4(1): 507.

47. Shepherd MA, Fleming VM, Connor TR, Corander J, Feil EJ, Fraser C. Historical Zoonoses and other changes in host tropism of *Staphylococcus aureus*, identified by phylogenetic analysis of a population dataset. *PLoS One*. 2013; 8 (5): e62369.
48. Ayora S, Carrasco B, Cardenas PP y col. Double-strand break repair in bacteria: A view from *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Reviews*.2011;35(6): 1055–1081.
49. Kidane D, Carrasco B, Manfredi C, y col. Evidence for different pathways during horizontal gene transfer in competent *Bacillus subtilis* cells. *PLoS Genetics*. 2009;5(1): e1000630.
50. Gonzalez-Pastor JE. Cannibalism: A social behavior in sporulating *Bacillus subtilis*. *FEMS Microbiology Reviews*. 2011; 35(3): 415–424
51. Sonenshein AL, Hoch JA y Losick . *Bacillus subtilis* and Its Closest Relatives: From Genes to Cells. 1 Edition. Washington, DC: American Society for Microbiology. 2002.
- 52.Keithlin J, Sargeant J, Thomas MK, and Fazil A. Chronic sequelae of *E. coli* O157: Systematic review and meta-analysis of the proportion of *E. coli* O157 cases that develop chronic sequelae. *Foodborne Pathogens and Disease*. 2014; 11(2): 79–95
53. Mansan-Almeida R, Pereira AL, and Giugliano LG. Diffusely adherent *Escherichia coli* strains isolated from children and adults constitute two different populations. *BMC Microbiology*. 2013;13(1): 22.
54. Smith EJ, Thompson AP, O’Driscoll A, and Clarke DJ. Pathogenesis of adherent-invasive *Escherichia coli*. *Future Microbiology*. 2013; 8(10): 1289–1300.
55. Mena KD, Gerba CP. Risk assessment of *Pseudomonas aeruginosa* in water. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*.2009; 201(1): 71–115.

56. Matsuda K, Tsuji H, Asahara T, Kado Y, Nomoto K. Sensitive quantitative detection of commensal bacteria by rRNA-targeted reverse transcription-PCR. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007; 73(20): 32–39
57. Özen AI, Ussery DW. Defining the *Pseudomonas* genus: where do we draw the line with *Azotobacter*? *Microbial Ecology*. 2012; 63(2): 239–248.
58. Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases*. 2002; 34(5): 634–640.
59. Tapia Manrique. Composición química, actividad antioxidante y antiCandida albicans del aceite esencial de *Clinopodium pulchellum* (Kunth) Govaerts “panizara”. Tesis para optar al Grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, 2017.
60. INFORME TÉCNICO N° 2273-18- LABICER. Universidad Nacional de Ingeniería.
61. Brand-Willlliams W, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technol*. 1995;28(1):25-30.
62. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, yang M., Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*. 1999;26(1):1231-7.
63. Elshikh M. Ahmed S. Funston S. Dunlop P. McGaw M.y col. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnol Lett*. 2016; 38 (6): 1015-1019.
64. Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants. *J Ethnopharmacol*. 2003;88(2-3):199-204.

65. Mansur J, Brender M, Azulay R. Correlação entre a determinação do fator de proteção solar em seres humanos e por espectrofotometria. *An Bras Dermatol.* 1986; 61(2):167-172.
66. The International Plant Names Index and World Checklist of Selected Plant Families 2019. Published on the Internet at <http://www.ipni.org> and <http://apps.kew.org/wcsp/>.
67. The Herbarium Catalogue, Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet <http://www.kew.org/herbcat>
68. Masango Phineas. Cleaner production of essential oils by steam distillation. *Journal of Cleaner Production.* 2005;13(1):833-839.
69. Ivonne Alexandra Coronel cazares y Juan Sebastián Piedra Santana. Estudio de las Propiedades físicas y composición química de los aceites esenciales de las hojas de *Peperomia inaequalifolia* Ruiz y Pav. Y *Piper pubinervulum* D.Dc. de los y el rizoma de *Renealmia thyrsoides* subsp. *Thyrsoides*. Tesis para optar al título de Ingeniero en biotecnología Universidad Politécnica salesiana sede quito. Quito, 2014
70. Okoh S, Iweriebor C y col. Bioactive constituents, radical scavenging, and antibacterial properties of the leaves and stem essential oils from *Peperomia pellucida* (L.) kunth. *Pharmacognosy Magazine.* 2017;13(51): 392-400.
71. Mohamad y col. Effect of drying method on anti-microbial, anti-oxidant activities and isolation of bioactive compounds from *Peperomia pellucida* (L) Hbk. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 2015;7(8):578-584.
72. Bazan Salinas y Lezama Jimenez. Evaluación de la capacidad antioxidante del aceite esencial de las hojas de *Peperomia dolabriformis* Kunth frente al radical 2,2-difenil-1-picrihidrazilo. Tesis para optar al grado académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. Perú-2017.

73. Elanur A, Hasan T, Fatime G. Antioxidative, anticancer and genotoxic properties of α -pinene on N2a neuroblastoma cells. *Biologia* 2013;68(1):1004-9.
74. Vallianou I, Peroulis N, Pantazis P, Hadzopoulou-Cladaras M. Camphene, a plant-derived monoterpene, reduces plasma cholesterol and triglycerides in hyperlipidemic rats independently of HMG-CoA reductase activity. *PLoS One* 2011;6:e20516
75. Zurowska. A Comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Scientiarum Polonorum. Technologia Alimentari.* 2012;11(1):83-89.
76. Langfield y col. Use of modified microplate bioassay method to investigate antibacterial activity in Peruvian medicinal plant *Peperomia galioides*. *Journal of Ethnopharmacology.* 2004;94(2-3): 279-281.
77. Rossi Cortez, C. A., Arias Arroyo, G. C., & Lozano Reyes, N. (2014). Determinación de la actividad antimicrobiana de *Peperomia galioides* H.B.K «*Congona*». Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
78. Penoel MD, Penoel R, Natural health care using essential oils. *Abundant health.* New Zealand; 2012, Available from: <http://www.abundanthealth4u.com>.
79. Ganuesan P, Phaiphon A, Mourugan Y, Baharin B. Comparative study of bioactive compounds in curry and coriander leaves – An update. *J Chem Pharm res* 2013; 5:590-4.
80. Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ, Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis* L., essential oil compared to its main components. *Food Chem* 2008; 108:1019-22.
81. De Feo V, Belaunde AJ, Sandoval JG et al (2008) Antibacterial activity and composition of the essential oil of *peperomia galioides* HBK (Piperaceae) from Peru. *Nat. Prod Commun* 3:933-936
82. Medina Huamán y Echaiz Veliz. Actividad antioxidante y fotoprotectora UVB in vitro de una crema dermocosmética elaborada con el extracto acuoso liofilizado del tubérculo de *Dioscorea trifida* L.f. (sacha papa morada). Tesis para optar al Título profesional de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-2019.

83. COLIPA. European Cosmetic Toiletry and Perfumery Association. 1990.

CAPÍTULO VIII. ANEXOS

ANEXO 1. Constancia de clasificación taxonómica

José Ricardo Campos de la Cruz CONSULTOR BOTÁNICO C. B. P. Nº 3796 Tel: 017512863 - RPM 963689079 e-mail: joramde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- Nº 3796 – INSCRITO CON EL Nº 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL Nº 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

Certifica:

Que, JUAN JOSÉ PONCE COBOS, miembro del Instituto de Investigación en Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara”, de la Facultad de Farmacia de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con fines de investigación científica ha solicitado la certificación de identificación botánica de la planta conocida con el nombre común de “**congona**”, la muestra ha sido identificada como *Peperomia galioides* Kunth. En base al Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO	: Plantae
DIVISIÓN	: Magnoliophyta
CLASE	: Magnoliopsida
SUBCLASE	: Magnoliidae
ORDEN	: Piperales
FAMILIA	: Piperaceae
GENERO	: <i>Peperomia</i>
ESPECIE	: <i>Peperomia galioides</i> Kunth

Nombre común: “congona”

Se expide la presente certificación para los fines que se estime conveniente.

Lima, 02 de junio del 2018



José R. Campos de la Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva # 156 – Urb. Santa Luzmila - Lima 07 / e-mail: joricampos@yahoo.es

ANEXO 2. *Peperomia galioides* Kunth “Congona”



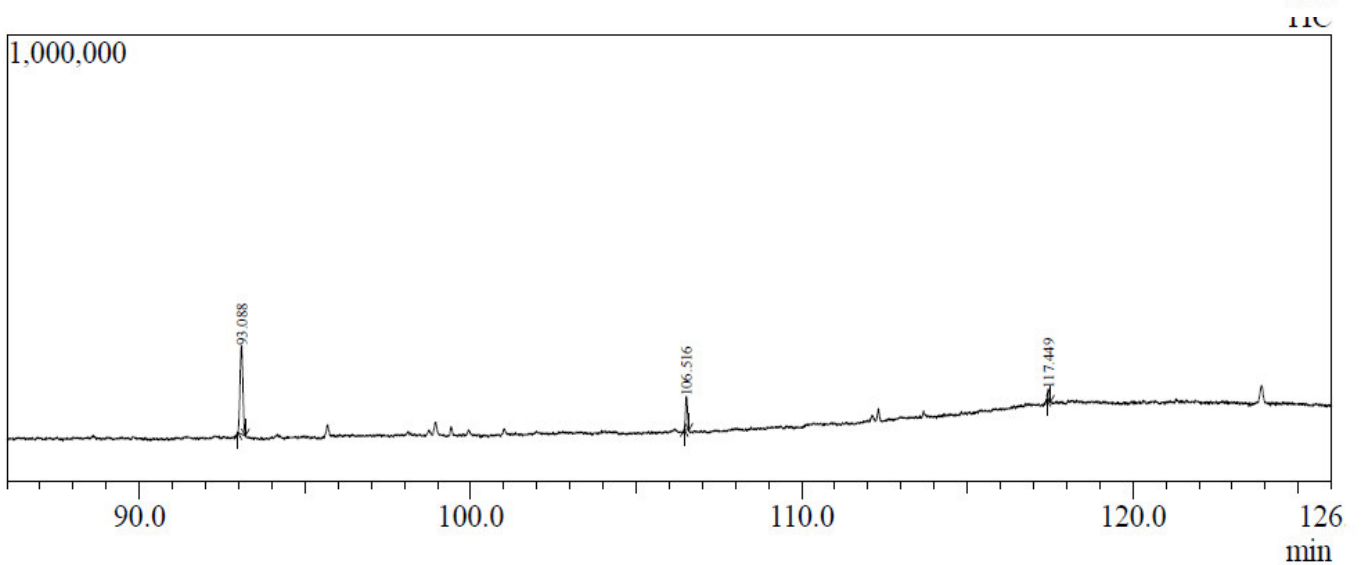
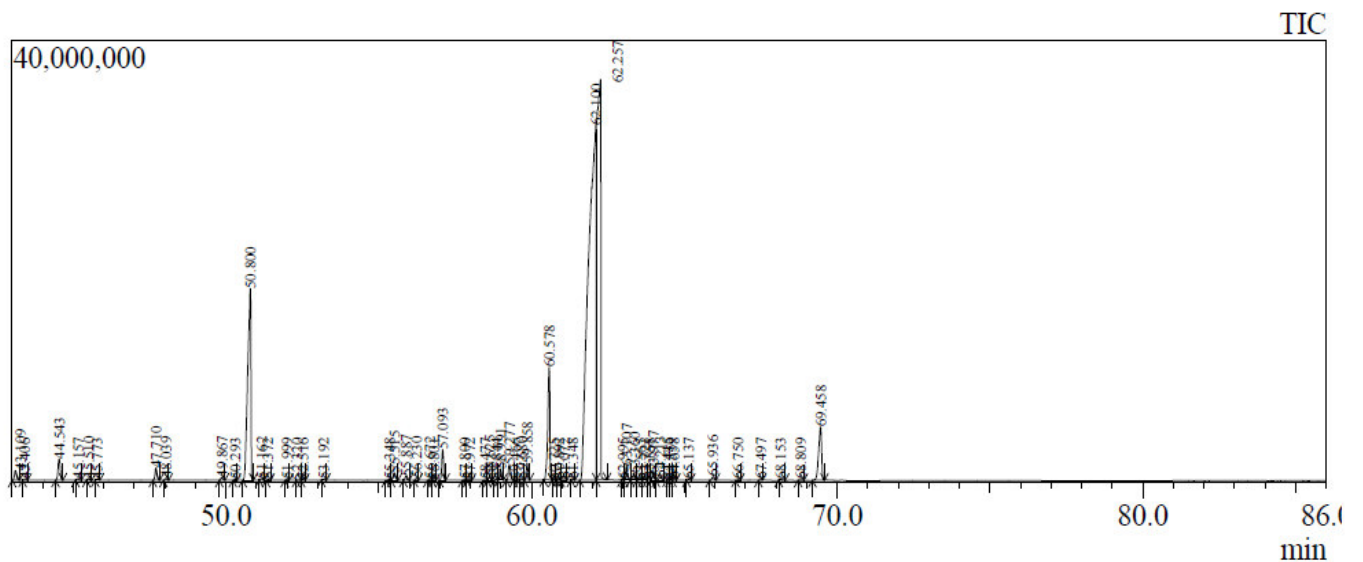
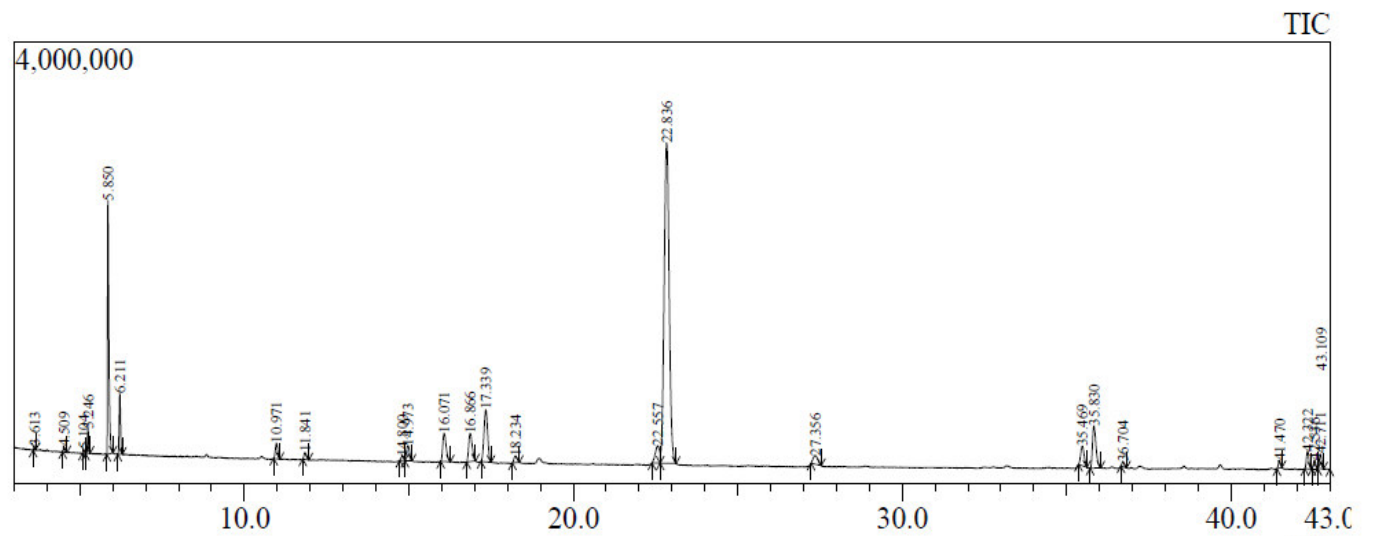
ANEXO 3. Obtención del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth “Congona” por destilación por arrastre a vapor de agua.



ANEXO 4. Fotografía del equipo cromatógrafo de gases acoplado al espectrómetro de masas.



ANEXO 5. Cromatograma de los componentes químicos del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth mediante Inyección Líquida.



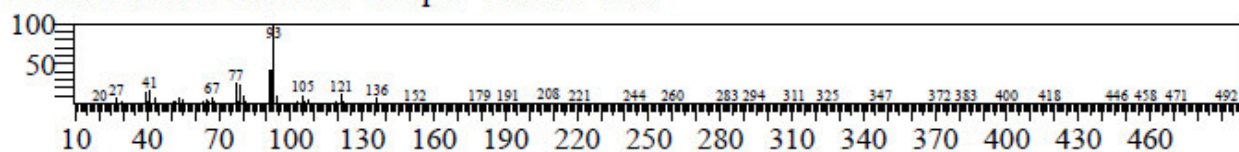
ANEXO 6. Componentes químicos mayoritarios del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth mediante Inyección Líquida contrastados con la biblioteca virtual.

<< Target >>

Line#:7 R.Time:10.970(Scan#:1595) MassPeaks:240

RawMode:Averaged 10.965-10.975(1594-1596) BasePeak:93.05(35715)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6850 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C10H16 CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:948

CompName:.alpha.-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trin

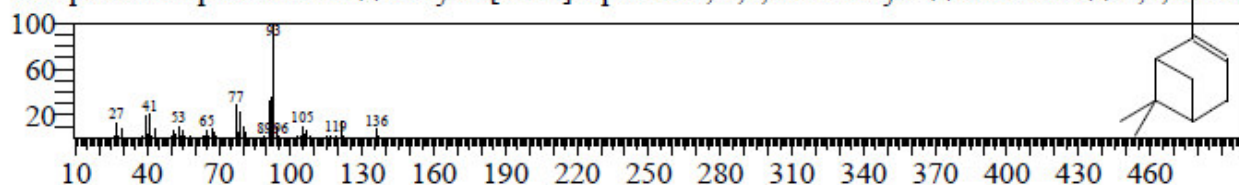


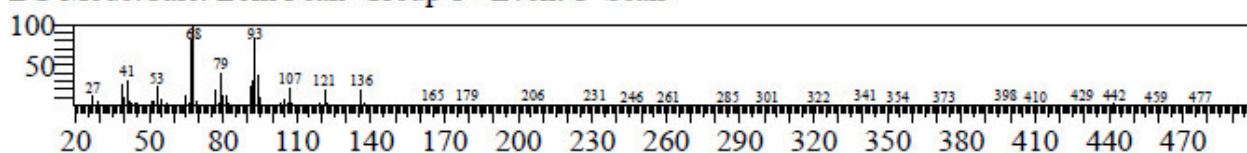
Figura. Espectro de la estructura del alfa-pinene

<< Target >>

Line#:15 R.Time:22.555(Scan#:3912) MassPeaks:242

RawMode:Averaged 22.550-22.560(3911-3913) BasePeak:68.05(13341)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6793 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RetIndex:1018

CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-di

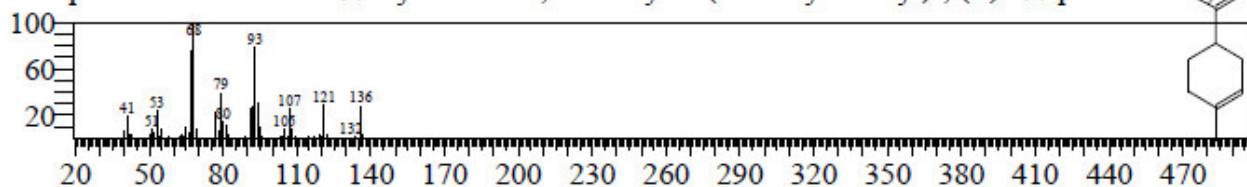
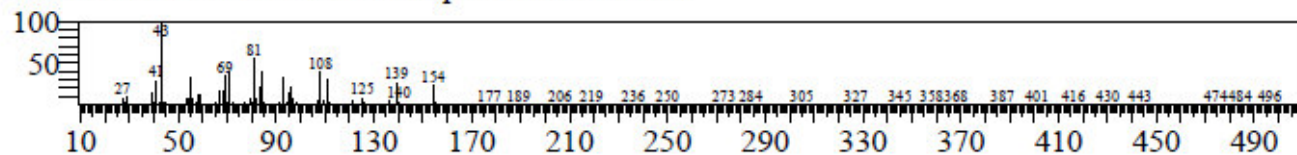


Figura. Espectro de la estructura del D-limonene

<< Target >>

Line#:16 R.Time:22.835(Scan#:3968) MassPeaks:289
RawMode:Averaged 22.830-22.840(3967-3969) BasePeak:43.00(376794)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:10306 Library:NIST14s.lib
SI:94 Formula:C10H18O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RefIndex:1059
CompName:Eucalyptol \$\$ Cineole \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ p-Menthane,

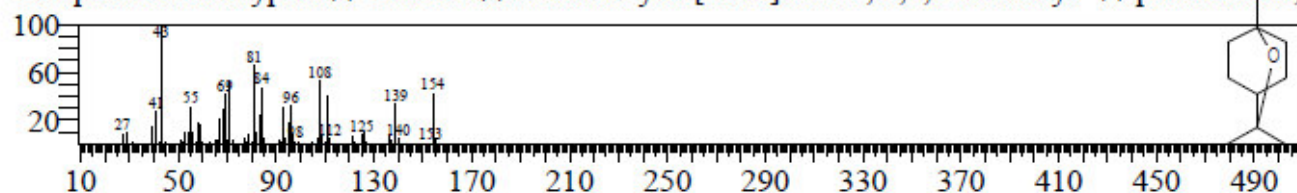
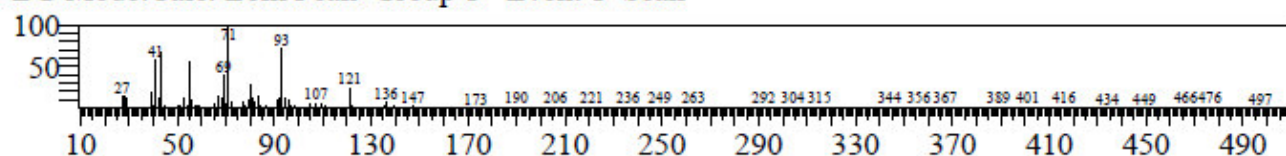


Figura. Espectro de la estructura del Eucalyptol

<< Target >>

Line#:20 R.Time:36.705(Scan#:6742) MassPeaks:251
RawMode:Averaged 36.700-36.710(6741-6743) BasePeak:71.05(5585)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:10353 Library:NIST14s.lib
SI:95 Formula:C10H18O CAS:78-70-6 MolWeight:154 RefIndex:1082
CompName:Linalool \$\$ 1,6-Octadien-3-ol, 3,7-dimethyl- \$\$.beta.-Linalool \$\$ Linalol \$\$ Linalyl a

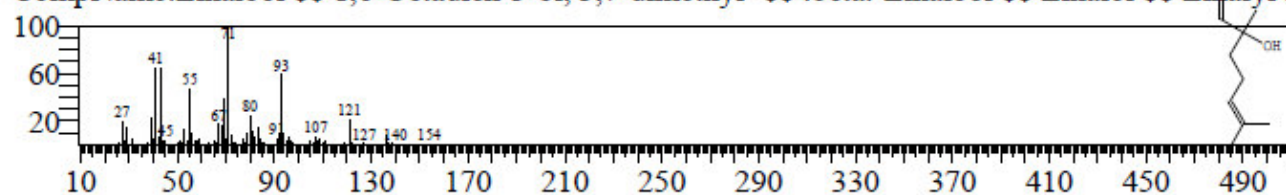


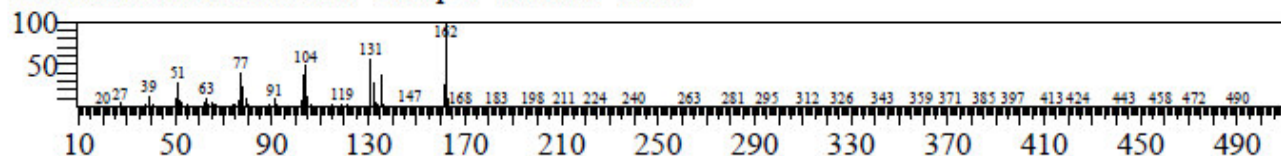
Figura. Espectro de la estructura del Linalool

<< Target >>

Line#:35 R.Time:50.800(Scan#:9561) MassPeaks:300

RawMode:Averaged 50.795-50.805(9560-9562) BasePeak:162.10(2847526)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:11680 Library:NIST14s.lib

SI:97 Formula:C10H10O2 CAS:94-59-7 MolWeight:162 RefIndex:1327

CompName:Safrole \$\$ 1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- \$\$ Benzene, 4-allyl-1,2-(methylenedioxy)

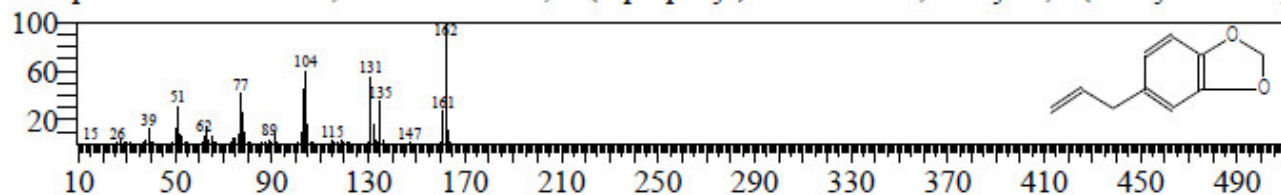


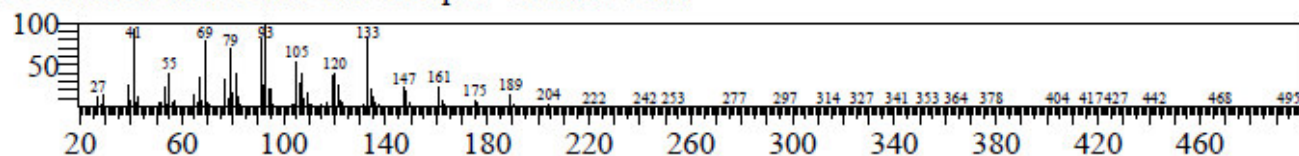
Figura. Espectro de la estructura del Safrole

<< Target >>

Line#:48 R.Time:57.095(Scan#:10820) MassPeaks:307

RawMode:Averaged 57.090-57.100(10819-10821) BasePeak:93.05(198597)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:19087 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C15H24 CAS:87-44-5 MolWeight:204 RefIndex:1494

CompName:Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene- [1R-(1F

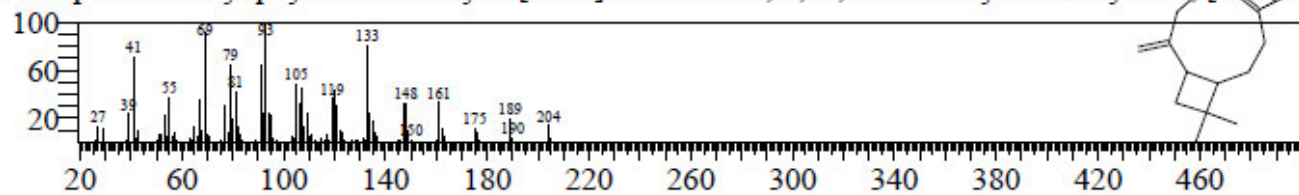


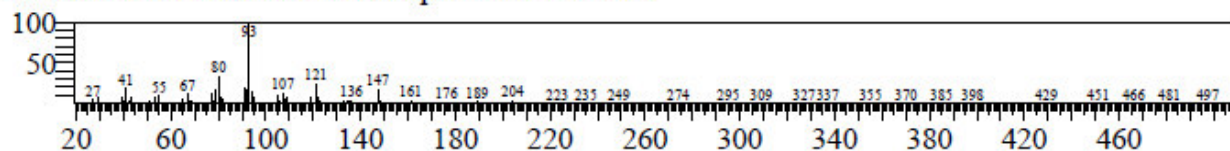
Figura. Espectro de la estructura del Caryophyllene

<< Target >>

Line#:52 R.Time:58.625(Scan#:11126) MassPeaks:313

RawMode:Averaged 58.620-58.630(11125-11127) BasePeak:93.05(69271)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:19088 Library:NIST14s.lib

SI:96 Formula:C₁₅H₂₄ CAS:6753-98-6 MolWeight:204 RetIndex:1579

CompName:Humulene \$\$.alpha.-Caryophyllene \$\$ 1,4,8-Cycloundecatriene, 2,6,6,9-tetramethyl-

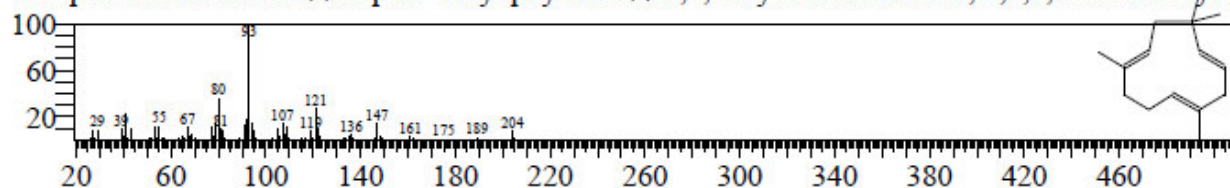


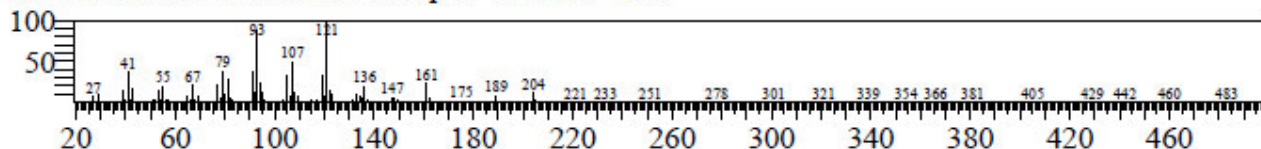
Figura. Espectro de la estructura del Humulene

<< Target >>

Line#:59 R.Time:60.580(Scan#:11517) MassPeaks:314

RawMode:Averaged 60.575-60.585(11516-11518) BasePeak:121.10(1176145)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:19161 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C₁₅H₂₄ CAS:3242-08-8 MolWeight:204 RetIndex:1431

CompName:Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)- \$\$ α -N

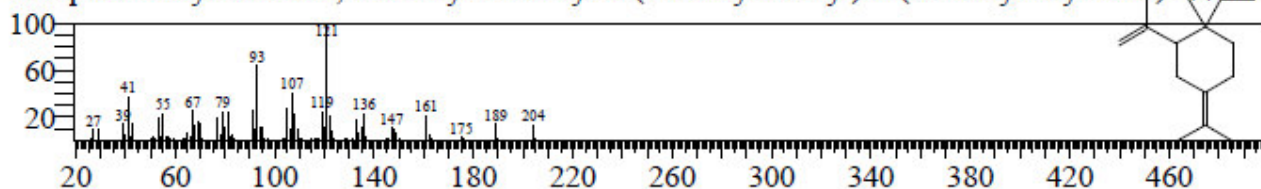


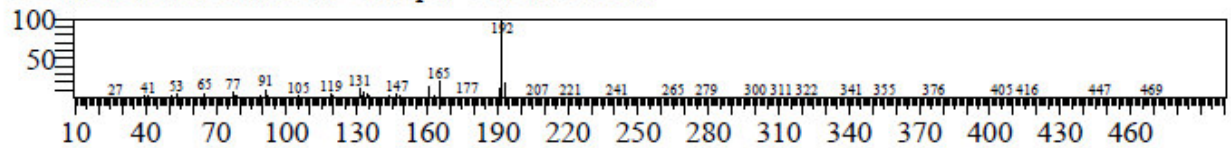
Figura. Espectro de la estructura del Cyclohexane, 1-ethenyl-1-methyl-2-(1-methylethenyl)-4-(1-methylethylidene)-

<< Target >>

Line#:64 R.Time:62.100(Scan#:11821) MassPeaks:264

RawMode:Averaged 62.095-62.105(11820-11822) BasePeak:192.05(426743)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:16951 Library:NIST14s.lib

SI:85 Formula:C₁₁H₁₂O₃ CAS:607-91-0 MolWeight:192 RetIndex:1516

CompName:1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-

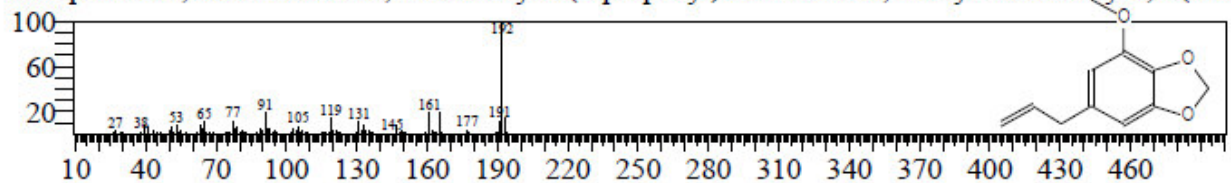


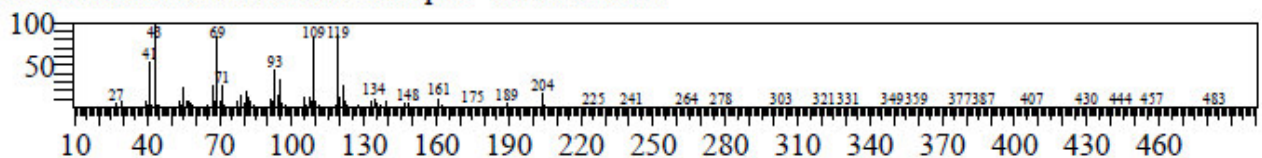
Figura. Espectro de la estructura del 1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)

<< Target >>

Line#:83 R.Time:69.460(Scan#:13293) MassPeaks:320

RawMode:Averaged 69.455-69.465(13292-13294) BasePeak:43.00(514712)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:21670 Library:NIST14s.lib

SI:94 Formula:C₁₅H₂₆O CAS:515-69-5 MolWeight:222 RetIndex:1625

CompName:.alpha.-Bisabolol

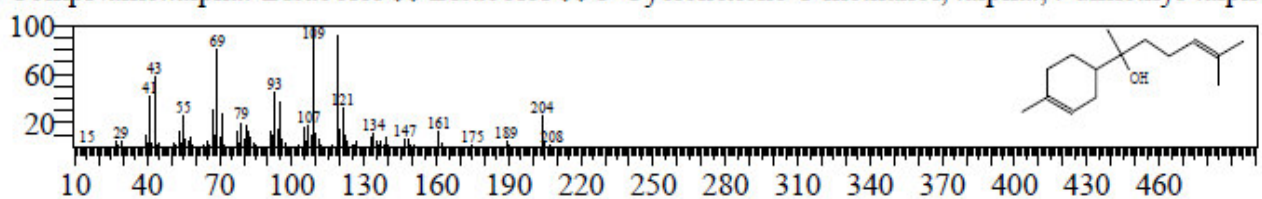
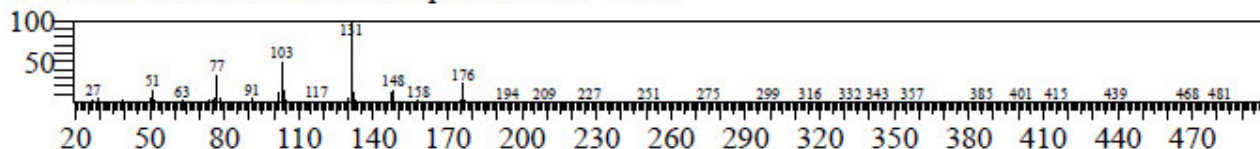


Figura. Espectro de la estructura del .alpha.-Bisabolol

<< Target >>

Line#:55 R.Time:59.275(Scan#:11256) MassPeaks:274
RawMode:Averaged 59.270-59.280(11255-11257) BasePeak:131.10(391807)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:14310 Library:NIST14s.lib
SI:98 Formula:C11H12O2 CAS:4192-77-2 MolWeight:176 RetIndex:1367
CompName:2-Propenoic acid, 3-phenyl-, ethyl ester, (E)- \$\$ Ethyl (2E)-3-phenyl-propenoate # \$:

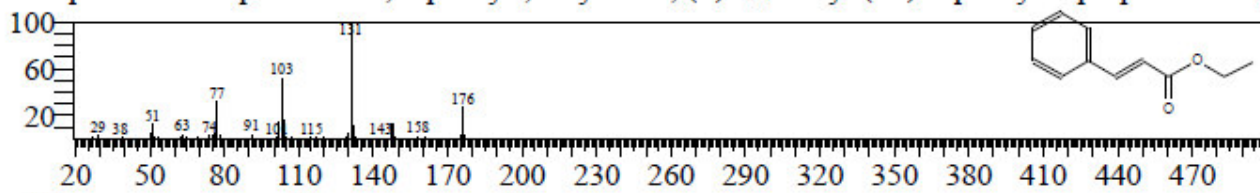
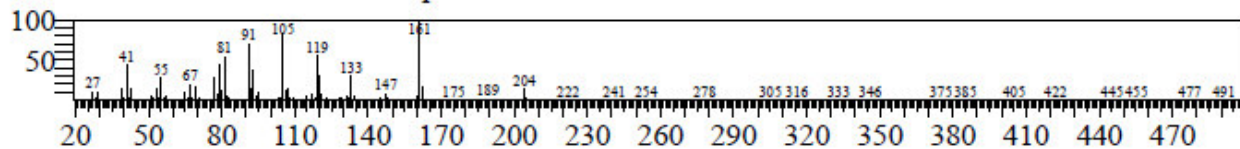


Figura. Espectro de la estructura del 2-Propenoic acid

<< Target >>

Line#:58 R.Time:59.860(Scan#:11373) MassPeaks:275
RawMode:Averaged 59.855-59.865(11372-11374) BasePeak:161.15(160873)
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:19185 Library:NIST14s.lib
SI:93 Formula:C15H24 CAS:23986-74-5 MolWeight:204 RetIndex:1515
CompName:Germacrene D \$\$ (S,1Z,6Z)-8-Isopropyl-1-methyl-5-methylenecyclodeca-1,6-diene \$\$

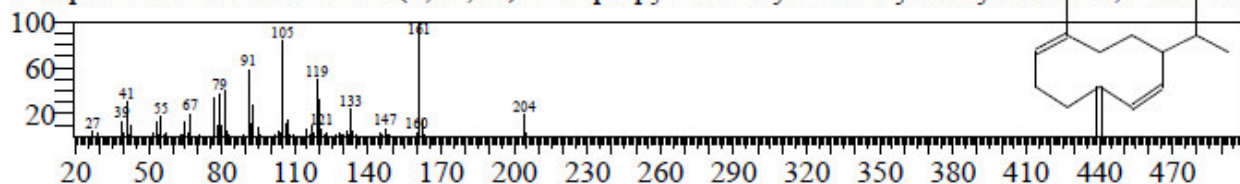


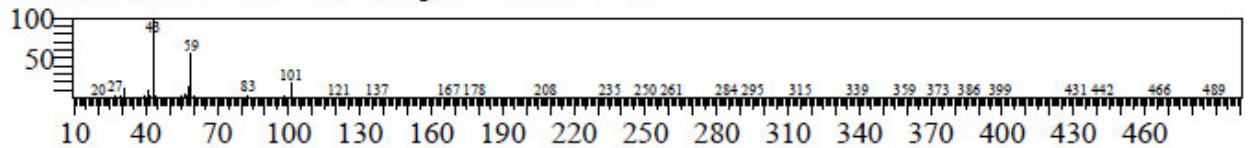
Figura. Espectro de la estructura del Germacrene

<< Target >>

Line#:5 R.Time:5.850(Scan#:571) MassPeaks:282

RawMode:Averaged 5.845-5.855(570-572) BasePeak:43.00(896597)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:3661 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C6H12O2 CAS:123-42-2 MolWeight:116 RefIndex:845

CompName:2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl- \$\$ Acetonyldimethylcarbinol \$\$ Diacetone alcohol

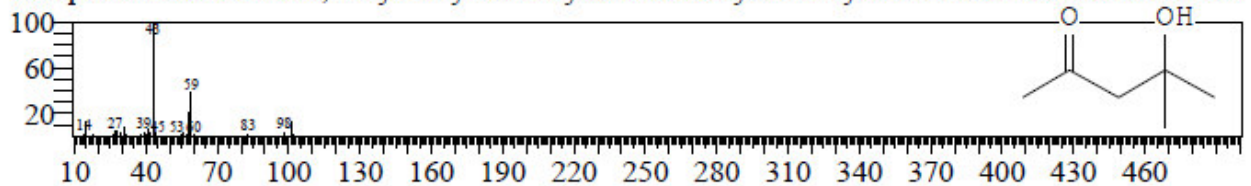


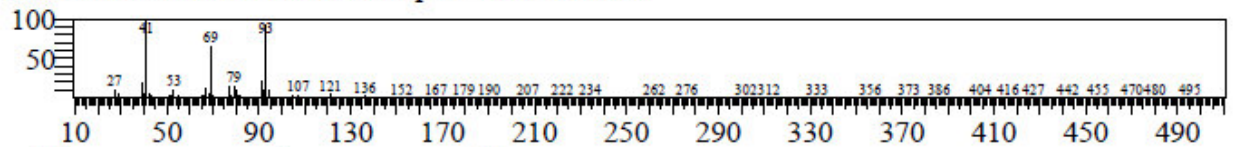
Figura. Espectro de la estructura del 2-Pentanone, 4-hydroxy-4-methyl

<< Target >>

Line#:13 R.Time:17.340(Scan#:2869) MassPeaks:309

RawMode:Averaged 17.335-17.345(2868-2870) BasePeak:41.05(103199)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6778 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:958

CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-*r*

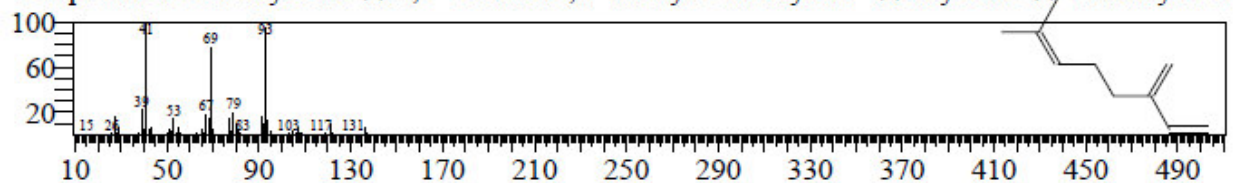
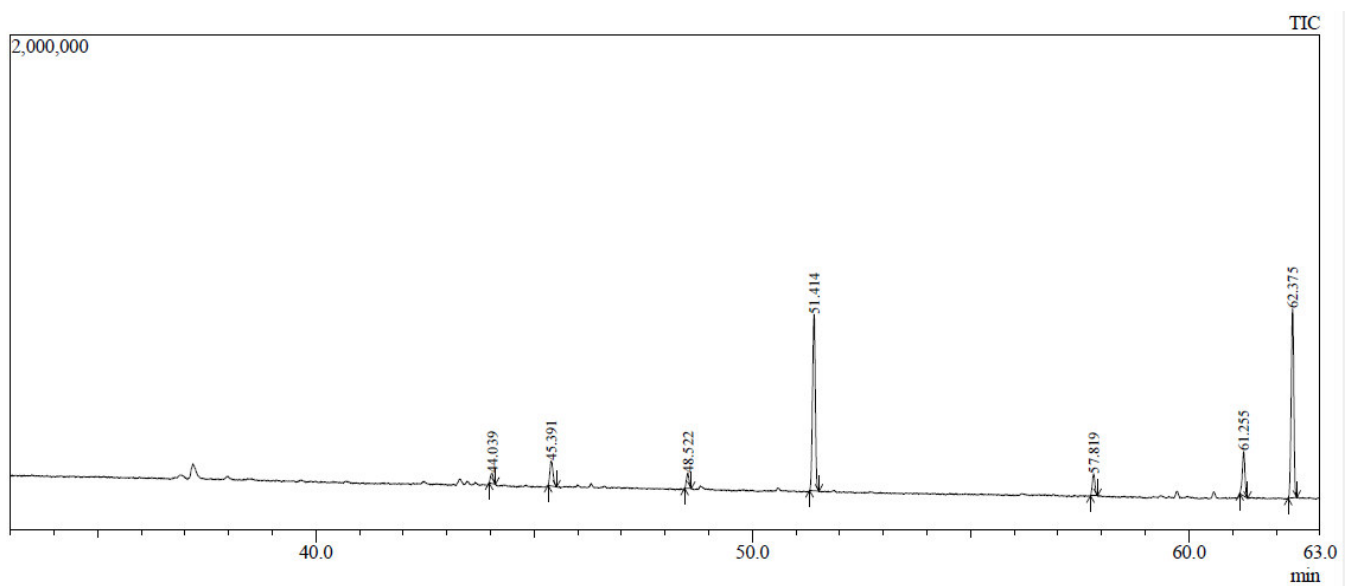
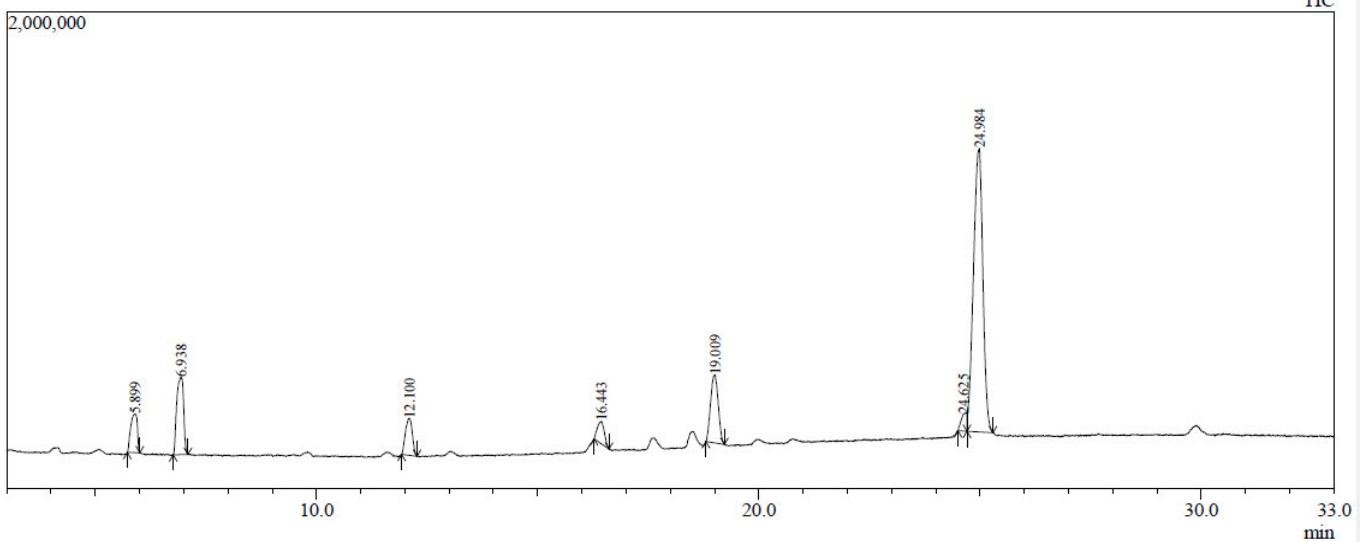
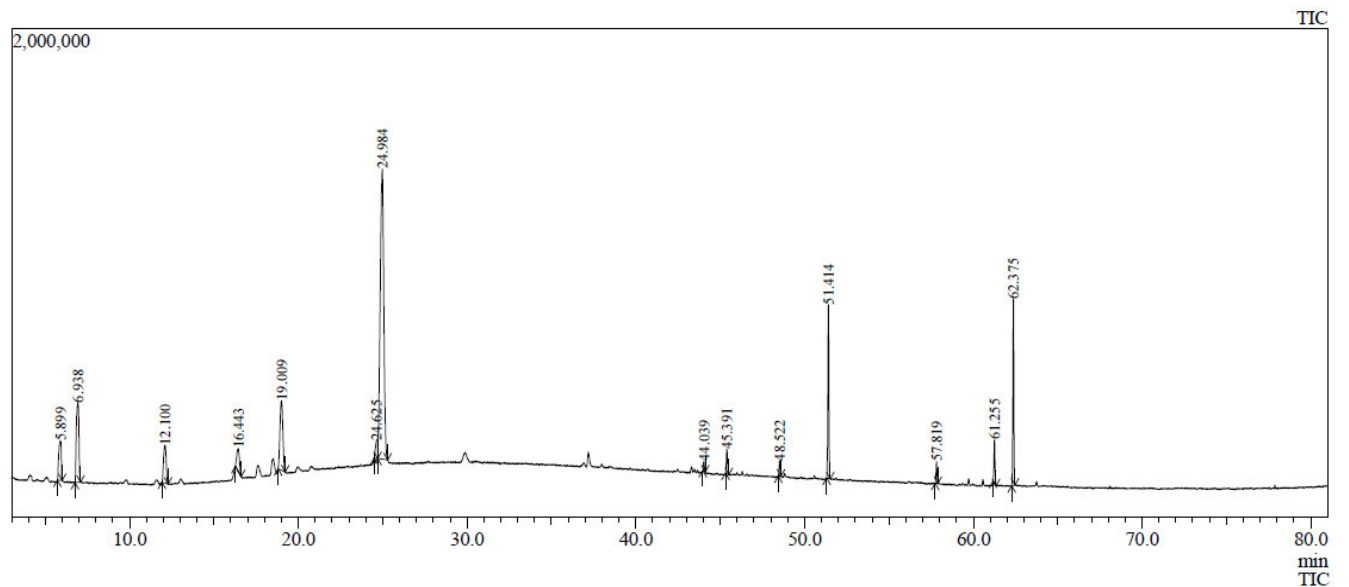


Figura. Espectro de la estructura del beta-myrcene

ANEXO 7. Cromatograma de los componentes químicos volátiles del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth mediante Headspace



ANEXO 8. Componentes químicos del aceite esencial de *Peperomia galioides* Kunth mediante Inyección Headspace contrastados con la biblioteca virtual.

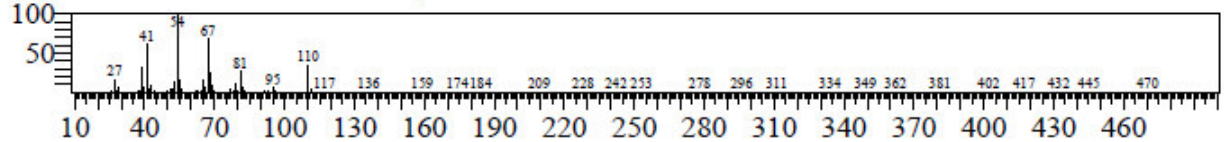
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:5.900(Scan#:581) MassPeaks:221

RawMode:Averaged 5.895-5.905(580-582) BasePeak:54.00(32542)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:2807 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C8H14 CAS:931-88-4 MolWeight:110 RetIndex:941

CompName:Cyclooctene \$\$ (Z)-Cyclooctene \$\$ 1-Cyclooctene # \$\$

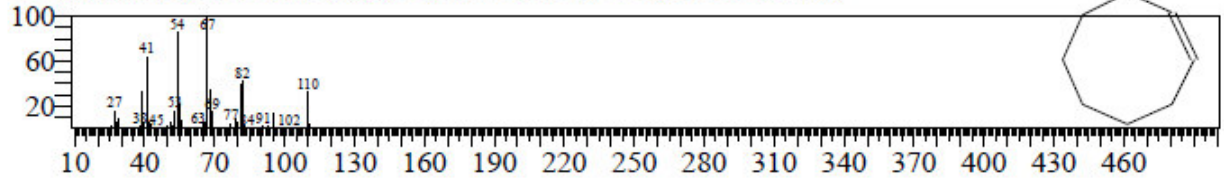


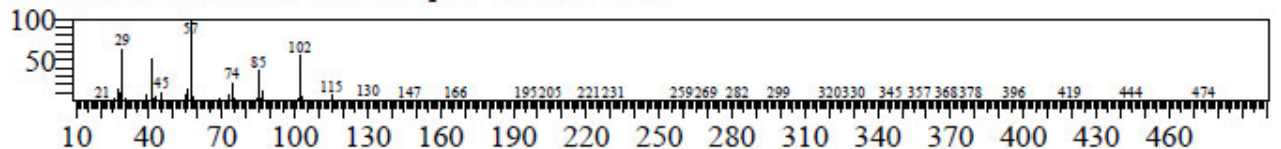
Figura. Espectro de la estructura del Cyclooctene

<< Target >>

Line#:2 R.Time:6.940(Scan#:789) MassPeaks:272

RawMode:Averaged 6.935-6.945(788-790) BasePeak:57.05(69950)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:5686 Library:NIST14s.lib

SI:97 Formula:C7H14O2 CAS:7452-79-1 MolWeight:130 RetIndex:820

CompName:Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester \$\$ Butyric acid, 2-methyl-, ethyl ester \$\$ Ethyl .a

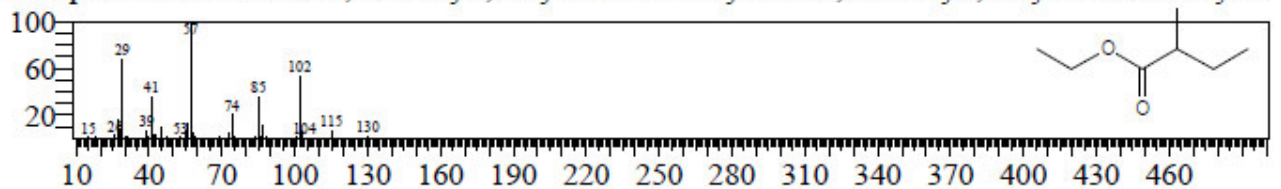


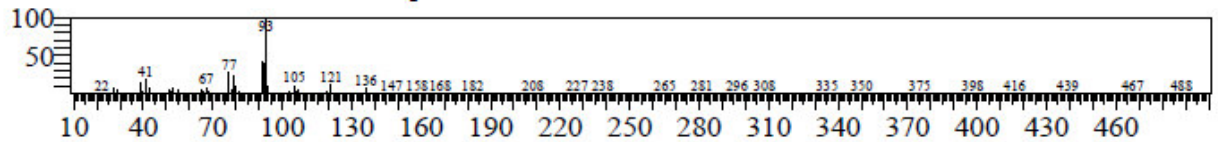
Figura. Espectro de la estructura del Butanoic acid, 2-methyl-, ethyl ester

<< Target >>

Line#:3 R.Time:12.100(Scan#:1821) MassPeaks:321

RawMode:Averaged 12.095-12.105(1820-1822) BasePeak:93.05(37445)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6850 Library:NIST14s.lib

SI:96 Formula:C₁₀H₁₆ CAS:80-56-8 MolWeight:136 RetIndex:948

CompName:.alpha.-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]hept-2-ene, 2,6,6-trimethyl- \$\$ 2-Pinene \$\$ 2,6,6-Trimethyl-

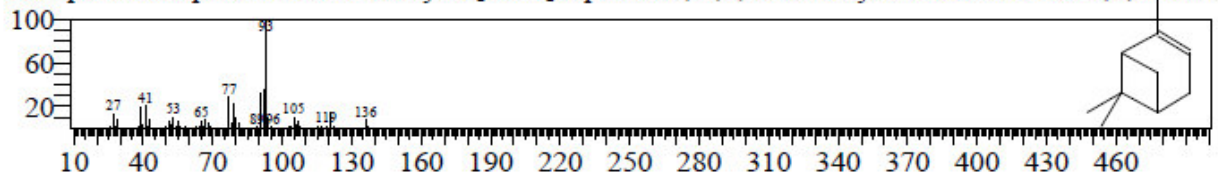


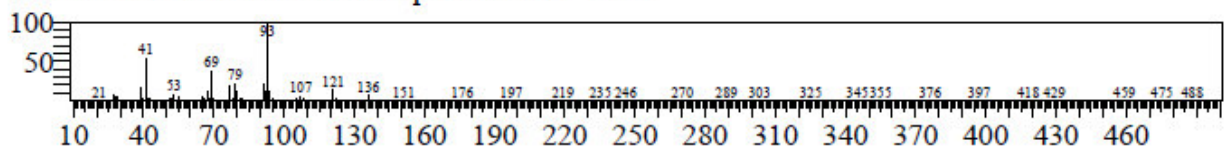
Figura. Espectro de la estructura del alpha-Pinene

<< Target >>

Line#:4 R.Time:16.445(Scan#:2690) MassPeaks:320

RawMode:Averaged 16.440-16.450(2689-2691) BasePeak:93.05(21178)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6809 Library:NIST14s.lib

SI:96 Formula:C₁₀H₁₆ CAS:127-91-3 MolWeight:136 RetIndex:943

CompName:.beta.-Pinene \$\$ Bicyclo[3.1.1]heptane, 6,6-dimethyl-2-methylene- \$\$ 2(10)-Pinene \$\$

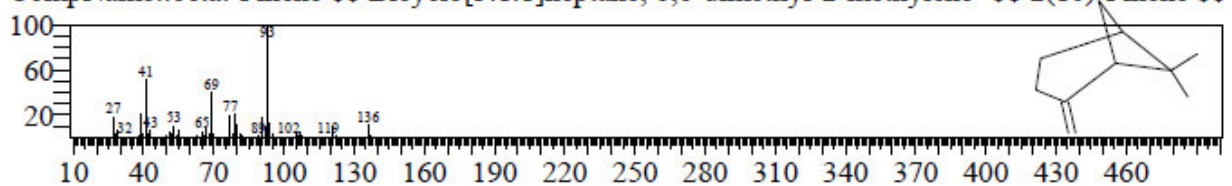


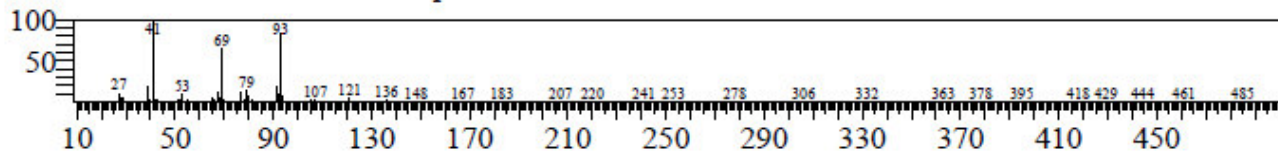
Figura. Espectro de la estructura del beta-Pinene

<< Target >>

Line#:5 R.Time:19.010(Scan#:3203) MassPeaks:253

RawMode:Averaged 19.005-19.015(3202-3204) BasePeak:41.00(65980)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6778 Library:NIST14s.lib

SI:94 Formula:C10H16 CAS:123-35-3 MolWeight:136 RefIndex:958

CompName:.beta.-Myrcene \$\$ 1,6-Octadiene, 7-methyl-3-methylene- \$\$ Myrcene \$\$ 7-Methyl-3-r

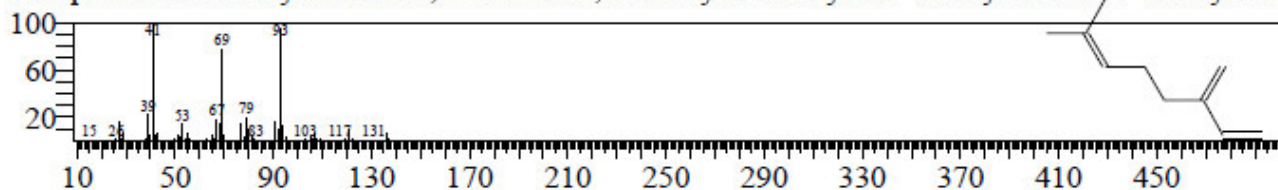


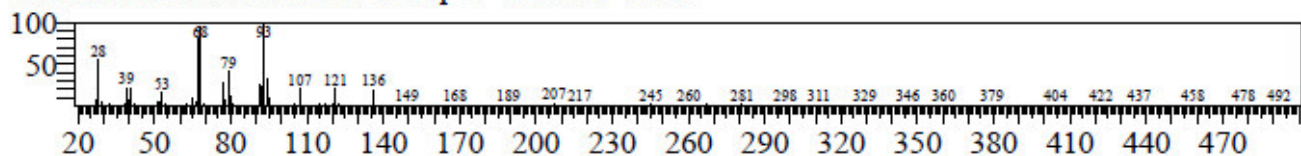
Figura. Espectro de la estructura del beta-myrcene

<< Target >>

Line#:6 R.Time:24.625(Scan#:4326) MassPeaks:292

RawMode:Averaged 24.620-24.630(4325-4327) BasePeak:93.10(3187)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:6792 Library:NIST14s.lib

SI:86 Formula:C10H16 CAS:5989-27-5 MolWeight:136 RefIndex:1018

CompName:D-Limonene \$\$ Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (R)- \$\$ p-Mentha-1,8-d

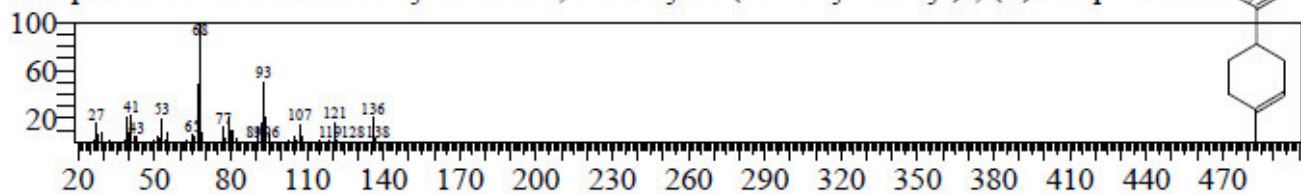


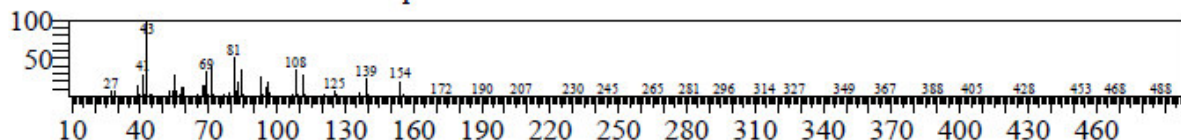
Figura. Espectro de la estructura D-Limonene

<< Target >>

Line#:7 R.Time:24.985(Scan#:4398) MassPeaks:309

RawMode:Averaged 24.980-24.990(4397-4399) BasePeak:43.00(167879)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:10306 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C₁₀H₁₈O CAS:470-82-6 MolWeight:154 RetIndex:1059

CompName:Eucalyptol \$\$ Cineole \$\$ 2-Oxabicyclo[2.2.2]octane, 1,3,3-trimethyl- \$\$ p-Menthane,

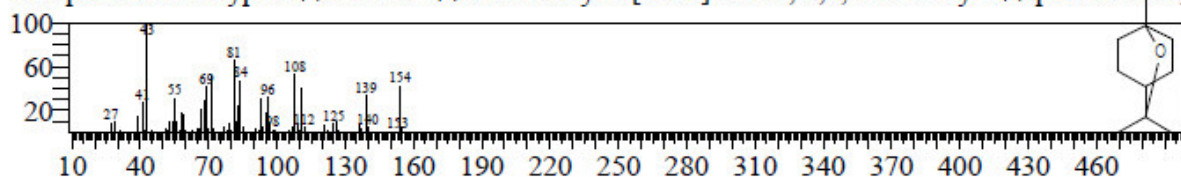


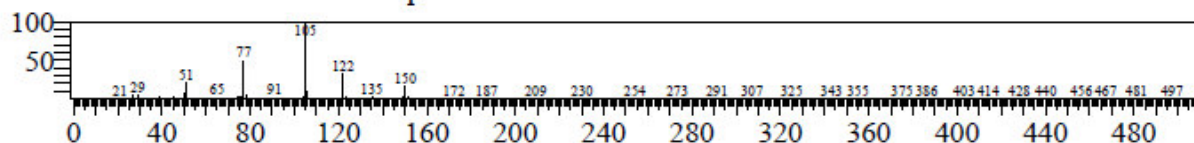
Figura. Espectro de la estructura del Eucalyptol

<< Target >>

Line#:8 R.Time:44.040(Scan#:8209) MassPeaks:301

RawMode:Averaged 44.035-44.045(8208-8210) BasePeak:105.05(14374)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:9176 Library:NIST14s.lib

SI:96 Formula:C₉H₁₀O₂ CAS:93-89-0 MolWeight:150 RetIndex:1160

CompName:Benzoic acid, ethyl ester \$\$ Ethyl benzenecarboxylate \$\$ Ethyl benzoate \$\$ Benzoic e

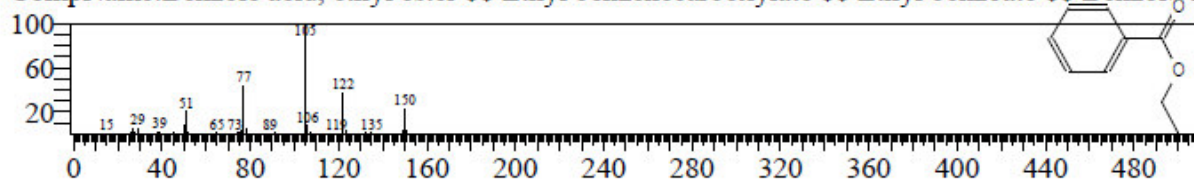


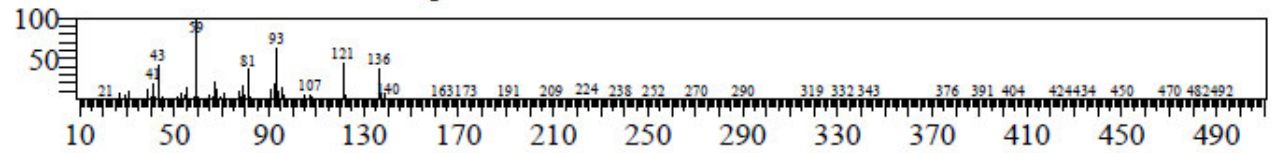
Figura. Espectro de la estructura del Benzoic acid, ethyl ester

<< Target >>

Line#:9 R.Time:45.390(Scan#:8479) MassPeaks:303

RawMode:Averaged 45.385-45.395(8478-8480) BasePeak:59.05(16387)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:10327 Library:NIST14s.lib

SI:97 Formula:C10H18O CAS:98-55-5 MolWeight:154 RetIndex:1143

CompName:.alpha.-Terpineol \$\$ 3-Cyclohexene-1-methanol, .alpha.,.alpha.4-trimethyl- \$\$ p-Ment

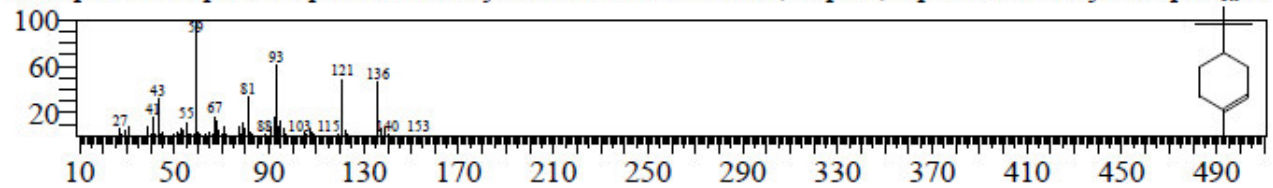


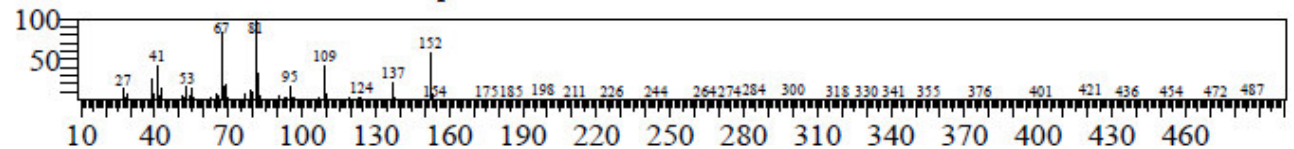
Figura. Espectro de la estructura del Alpha-Terpineol

<< Target >>

Line#:10 R.Time:48.520(Scan#:9105) MassPeaks:231

RawMode:Averaged 48.515-48.525(9104-9106) BasePeak:81.05(9378)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:9863 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C10H16O CAS:89-82-7 MolWeight:152 RetIndex:1212

CompName:Pulegone \$\$ Cyclohexanone, 5-methyl-2-(1-methylethylidene)-, (R)- \$\$ p-Menth-4(8)-

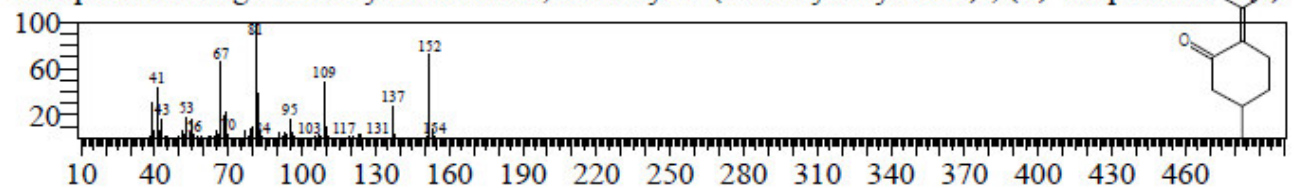


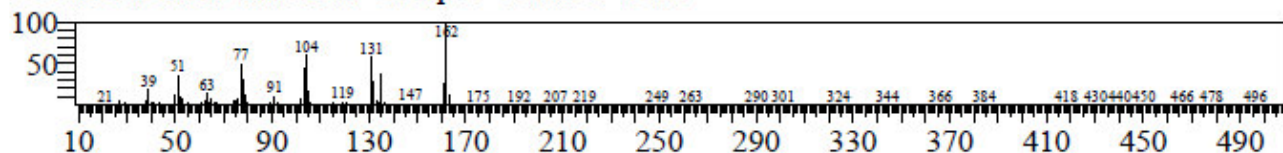
Figura. Espectro de la estructura del Pulegone

<< Target >>

Line#:11 R.Time:51.415(Scan#:9684) MassPeaks:274

RawMode:Averaged 51.410-51.420(9683-9685) BasePeak:162.10(100906)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:11680 Library:NIST14s.lib

SI:97 Formula:C₁₀H₁₀O₂ CAS:94-59-7 MolWeight:162 RetIndex:1327

CompName:Safrole \$\$ 1,3-Benzodioxole, 5-(2-propenyl)- \$\$ Benzene, 4-allyl-1,2-(methylenedioxy)

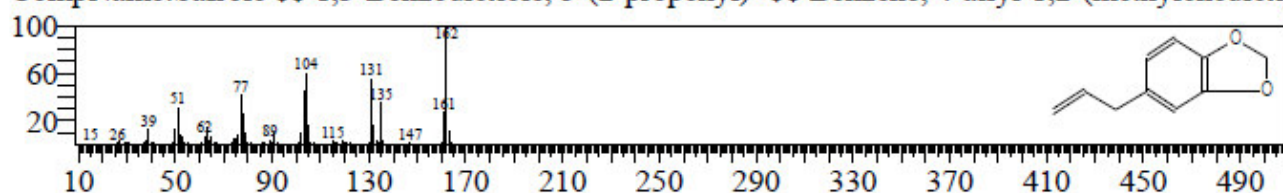


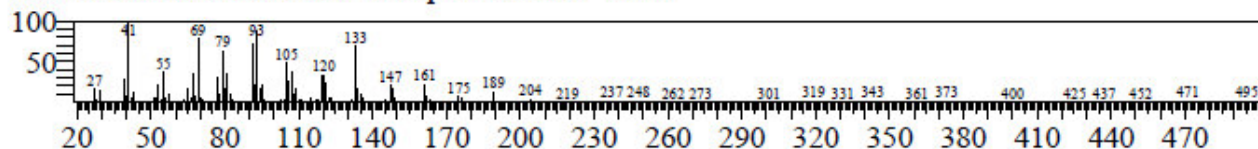
Figura. Espectro de la estructura del Safrole

<< Target >>

Line#:12 R.Time:57.820(Scan#:10965) MassPeaks:276

RawMode:Averaged 57.815-57.825(10964-10966) BasePeak:41.00(6799)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:19033 Library:NIST14s.lib

SI:95 Formula:C₁₅H₂₄ CAS:87-44-5 MolWeight:204 RetIndex:1494

CompName:Caryophyllene \$\$ Bicyclo[7.2.0]undec-4-ene, 4,11,11-trimethyl-8-methylene- [1R-(1E

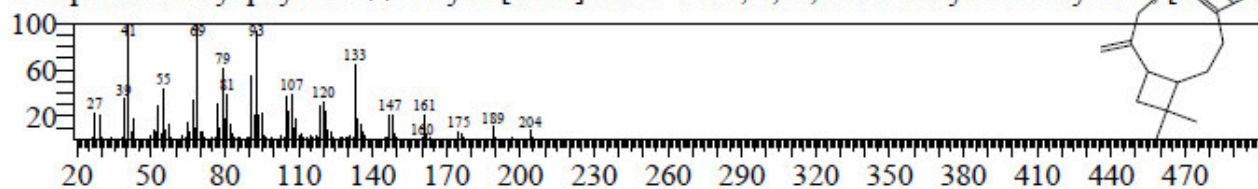


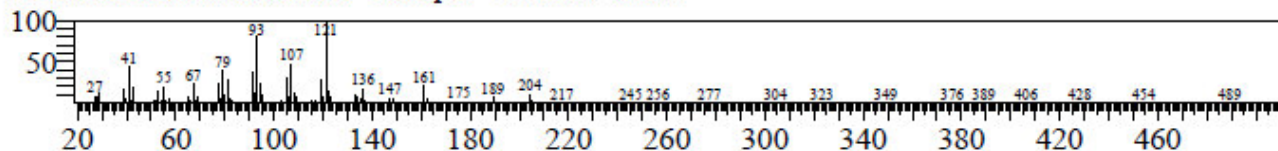
Figura. Espectro de la estructura del Caryophyllene

<< Target >>

Line#:13 R.Time:61.255(Scan#:11652) MassPeaks:325

RawMode:Averaged 61.250-61.260(11651-11653) BasePeak:121.15(20501)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:19159 Library:NIST14s.lib

SI:92 Formula:C₁₅H₂₄ CAS:15423-57-1 MolWeight:204 RefIndex:1603

CompName:1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)-, (E,E)- \$\$ Germacrene B \$

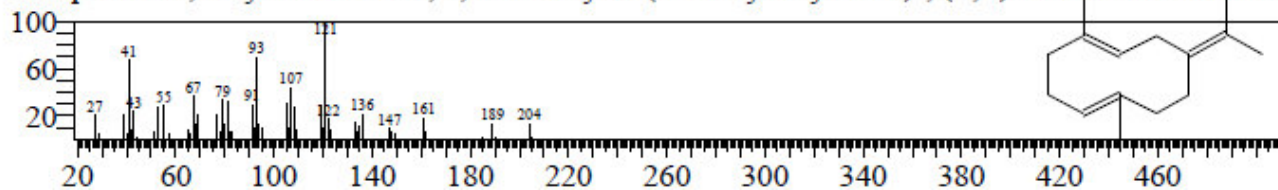


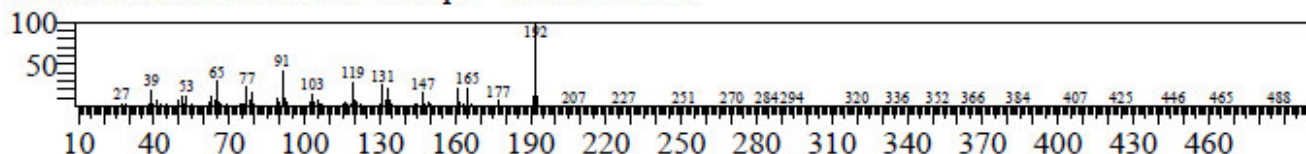
Figura. Espectro de la estructura del 1,5-Cyclodecadiene, 1,5-dimethyl-8-(1-methylethylidene)

<< Target >>

Line#:14 R.Time:62.375(Scan#:11876) MassPeaks:303

RawMode:Averaged 62.370-62.380(11875-11877) BasePeak:192.05(113914)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1 Scan



Hit#:1 Entry:16946 Library:NIST14s.lib

SI:96 Formula:C₁₁H₁₂O₃ CAS:607-91-0 MolWeight:192 RefIndex:1516

CompName:1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)- \$\$ Benzene, 5-allyl-1-methoxy-2,3-(me

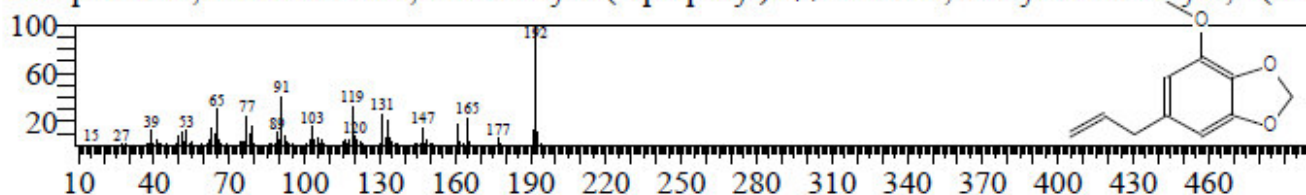


Figura. Espectro de la estructura del 1,3-Benzodioxole, 4-methoxy-6-(2-propenyl)-