UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

TESIS:

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. y su incorporación a una crema mucocutánea.

Para optar el título profesional de:
QUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:
Bach. Luis Miguel APARI PASTOR

ASESOR:
Dr. Q.F. Marco Rolando ARONES JARA

AYACUCHO - PERÚ

2025

A Dios, a mis padres y hermanos por su apoyo incondicional en mi formación personal y profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, forjador de admirables profesionales con principios éticos al servicio de la sociedad.

A la Facultad de Ciencias de la Salud; especialmente, a la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica; y a sus excelentes docentes, por compartir generosamente sus conocimientos y orientaciones durante mi formación profesional.

Al Dr. Q.F. Marco Rolando ARONÉS JARA, por su asesoría durante el desarrollo de este trabajo de investigación, donde su amplia experiencia fue sustancial para la concreción de esta tesis.

Al Mg. Q.F. Edgar Cárdenas Landeo, Mg. Q.F. Edith Conislla, Mg. Q.F. Kirianova Godoy, por su generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su vasta capacidad y experiencia científica. Su orientación, ofrecida en un ambiente de confianza y cordialidad, fue fundamental para el desarrollo y culminación del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	xi
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN	xv
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA	5
2.1. Marco Referencial	5
2.1.1. Antecedentes Internacionales	5
2.1.2. Antecedentes Nacionales	7
2.1.3. Antecedentes Locales	9
2.2. Marco Teórico	10
2.2.1. *Piper elongatum* Vahl.	10
2.2.2. Extracción de Aceites Esenciales	13
2.2.3. Actividad Antibacteriana	14
2.2.4. Métodos para Evaluar la Actividad Antibacteriana	14
2.2.5. Fitocosméticos	16
2.2.6. Formulación a Base de Aceites Esenciales	16
2.2.7. Estudios de Estabilidad	19
2.3. Marco Conceptual	20
2.4. Marco Ético y Legal	20
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Alcance de Investigación	23
3.2. Diseño de Investigación	23
3.3. Unidad de Análisis	23
3.4. Población de Estudio	23
3.5. Muestra	23
3.6. Criterios de Selección	24
3.6.1. Criterios de Inclusión	24
3.6.2. Criterios de Exclusión	24
3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos	24
3.7.1. Material Vegetal	24

3.7.2. Análisis de las Hojas 24
3.7.3. Análisis Físico del Aceite Esencial 25
3.7.4. Análisis Químico del Aceite Esencial 26
3.7.5. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana 26
3.7.6. Evaluación de la Concentración Inhibitoria Mínima 27
3.7.7. Pruebas de Estabilidad Preliminar 27
3.8. Análisis de Datos 29
3.9. Consideraciones Éticas 29
CAPÍTULO IV. RESULTADOS 31
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN 45
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES 53
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES 55
BIBLIOGRAFÍA 57
ANEXOS 65

ÍNDICE DE TABLAS

Página

Tabla 1. Composición química del aceite esencial de *Piper aduncum* realizado por CG/EM 12

Tabla 2. Composición química por GC-MS del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. 13

Tabla 3. Parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 33

Tabla 4. Composición química del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 34

Tabla 5. Variación de las características organolépticas de la crema mucocutánea a base del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. en el estudio de pre-estabilidad. Ayacucho 2025. 41

Tabla 6. Variación de las propiedades fisicoquímicas de la crema mucocutánea a base del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. en el estudio de pre-estabilidad. Ayacucho 2025. 42

Tabla 7. Control microbiológico de la crema mucocutánea a base del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. en el estudio de pre-estabilidad. Ayacucho 2025. 44

ÍNDICE DE FIGURAS

Página

Figura 1.	Cromatograma GC-MS del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025.	35
Figura 2.	Halos de inhibición del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.* Ayacucho 2025.	36
Figura 3.	Halos de inhibición del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. emulsionados con Tween 20 y 80 frente a *Staphylococcus aureus.* Ayacucho 2025.	37
Figura 4.	Halos de inhibición del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. emulsionados con Tween 20 y 80 frente a *Bacillus subtilis.* Ayacucho 2025.	38
Figura 5.	Concentración inhibitoria mínima del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus.* Ayacucho 2025.	39
Figura 6.	Concentración inhibitoria mínima del aceite esencial de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Bacillus subtilis.* Ayacucho 2025.	40
Figura 7.	Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a la crema mucocutánea a base de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025.	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Página

Anexo 1. Identificación taxonómica de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 67

Anexo 2. Localización geográfica del lugar de recolección del *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 68

Anexo 3. Flujograma del diseño metodológico para la preparación de la muestra de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 69

Anexo 4. Flujograma para determinar el análisis fisicoquímico y microbiológico del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 70

Anexo 5. Flujograma para determinar la actividad antimicrobiana por método de difusión en agar por discos. Ayacucho 2025. 71

Anexo 6. Flujograma para determinar pruebas de estabilidad preliminar de la crema mucocutánea a base de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. Ayacucho 2025. 72

Anexo 7. Análisis de datos en SPSS 73

Anexo 8. Matriz de definición y operacionalización de variables 81

Anexo 9. Matriz de consistencia 82

RESUMEN

El aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos ha impulsado el estudio del aceite esencial (AE) de *Piper elongatum* Vahl. como una alternativa frente a infecciones mucocutáneas causadas por bacterias resistentes. El objetivo fue determinar la actividad antimicrobiana del AE de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis,* así como evaluar su incorporación en una crema mucocutánea y la estabilidad fisicoquímica de la formulación. El AE se extrajo mediante destilación por arrastre de vapor. Se analizó sus parámetros fisicoquímicos y perfil químico por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, la actividad antimicrobiana se evaluó mediante pruebas de difusión en agar y la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM), mediante el método de microdilución en caldo. Se formuló una crema O/A al 3% a base del AE, se evaluó la estabilidad preliminar siguiendo las directrices de ANVISA. Se analizaron su aspecto, color, olor, pH, y pruebas microbiológicas mediante el método de recuento microbiano. Los resultados mostraron que el apiol fue el principal componente del AE (97,24 %) y mostró halos de inhibición de 7,43 mm para *Staphylococcus aureus* y 7,19 mm para *Bacillus subtilis*, con un CIM de 500 mg/ml para *Bacillus subtilis*. La crema ha demostrado mantener sus características organolépticas, pH adecuado, buena extensibilidad y cumplió con los límites microbiológicos establecidos. Concluyendo que, el AE de *Piper elongatum* Vahl. posee actividad antimicrobiana leve y su incorporación en una crema mucocutánea resultó en una formulación estable, con un buen perfil fisicoquímico y microbiológico.

Palabras clave: *Piper elongatum* Vahl., aceite esencial, apiol, actividad antibacteriana, crema mucocutánea, estudio de estabilidad.

ABSTRACT

The increase in bacterial resistance to antibiotics has prompted the study of the essential oil (EO) of *Piper elongatum* Vahl as an alternative for mucocutaneous infections caused by resistant bacteria. The objective was to determine the antimicrobial activity of *Piper elongatum* Vahl against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*, as well as to evaluate its incorporation into a mucocutaneous cream and the physicochemical stability of the formulation. The EO was extracted by steam distillation. Its physicochemical parameters and chemical profile were analyzed by gas chromatography-mass spectrometry. Antimicrobial activity was assessed by agar diffusion tests, and the minimum inhibitory concentration (MIC) was determined using the broth microdilution method. A 3% O/A cream was formulated based on the EO, and its preliminary stability was assessed following ANVISA guidelines. The cream's appearance, color, odor, pH, and microbiological tests were analyzed using the microbial enumeration method. The results showed that apiol was the main component of the EO (97.24%) and presented zones of inhibition of 7.43 mm for *Staphylococcus aureus* and 7.19 mm for *Bacillus subtilis*, with an MIC of 500 mg/mL for *Bacillus subtilis*. The cream was shown to maintain its organoleptic characteristics, maintain adequate pH, and spreadability, and meet established microbiological limits. It was concluded that the EO of *Piper elongatum* Vahl. possesses mild antimicrobial activity, and its incorporation into a mucocutaneous cream resulted in a stable formulation with a good physicochemical and microbiological profile.

Keywords: *Piper elongatum* Vahl., essential oil, apiol, antibacterial activity, mucocutaneous cream, stability study.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El aumento de la resistencia bacteriana a los antibióticos convencionales se ha convertido en uno de los mayores retos para la salud pública mundial. Microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* han desarrollado una preocupante resistencia frente a los efectos de los antibióticos tradicionales, lo que intensifica la necesidad de encontrar alternativas terapéuticas seguras y eficaces. Estas infecciones, que afectan tanto la piel como las mucosas, requieren especial atención debido a su impacto negativo en la calidad de vida de los pacientes [1].

En este escenario, el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. surge como una opción prometedora, gracias a su alta concentración de apiol [2], que ha mostrado una notable actividad antibacteriana contra estas bacterias [3–5]. Sin embargo, su posible incorporación en formulaciones tópicas, como cremas mucocutáneas, aún no ha sido suficientemente investigada.

Los aceites esenciales derivados de plantas son metabolitos secundarios que contienen terpenos, fenilpropenos, shikimatos y otros compuestos bioactivos [6]. El apiol, clasificado como fenilpropeno, se encuentra principalmente en las familias Apiaceae, Piperaceae y Myristicaceae, siendo *Piper aduncum* una de sus fuentes más conocidas. Este compuesto ha demostrado diversas propiedades farmacológicas, incluyendo efectos antioxidantes, antifúngicos, anticancerígenos, acaricidas, antiproliferativos y antibacterianas [7]. En particular, el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl., ha mostrado una notable concentración de apiol (97,9%) en su composición, lo que hace que este aceite esencial sea una opción atractiva para el desarrollo de productos terapéuticos destinados a tratar infecciones bacterianas [2].

A pesar de los resultados alentadores sobre la actividad antibacteriana del apiol, la aplicación del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. en formulaciones tópicas como cremas sigue siendo escasamente investigada. Las cremas antimicrobianas son una de las formas más comunes de administración tópica debido a su capacidad para aplicar directamente los principios activos sobre las áreas afectadas, promoviendo una acción localizada sin causar efectos sistémicos. Esta modalidad de formulación no solo

mejora la biodisponibilidad de los principios activos, sino que también facilita su absorción y acción en la piel o mucosas [8].

La importancia de investigar el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. rico en apiol y su posible incorporación en una formulación tópica radica en la necesidad de encontrar alternativas efectivas frente a la creciente resistencia bacteriana. Los antibióticos convencionales, utilizados de manera indiscriminada, han promovido la aparición de cepas resistentes que dificultan tratamientos convencionales. Al considerar los aceites esenciales como una alternativa, se busca no solo ofrecer un tratamiento antibacteriano eficaz, sino también desarrollar productos cosméticos que sean seguros, estables y biocompatibles con la piel. De acuerdo con los hallazgos de diversos estudios, el aceite esencial de *Piper aduncum* exhibe propiedades antibacterianas frente a *Staphylococcus aureus*, lo que justifica su investigación para su incorporación en formulaciones terapéuticas [4,9].

Por tanto, este estudio busca llenar ese vacío de conocimiento al investigar, no solo la evaluación antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl., sino también en su formulación y en la ejecución de pruebas de estabilidad preliminares conforme a los lineamientos de la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA), con el fin de garantizar la seguridad y eficacia del producto desarrollado [10].

En ese contexto, el problema de investigación planteado fue ¿Tendrá actividad antimicrobiana el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis,* y es posible incorporarlo en una crema mucocutánea estable?

Desde ese punto de vista, el presente trabajo de investigación tiene el objetivo de determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis,* así como su incorporación en una crema mucocutánea y la estabilidad fisicoquímica de la formulación.

Con ese fin, se planteó los siguientes objetivos específicos:

- Evaluar los halos de inhibición producidos por el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis,* mediante la técnica de difusión en agar.
- Evaluar los halos de inhibición producido por emulsiones del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. con Tween 20 y 80 a concentraciones del 10%, 25% y 50%, frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis,* mediante la técnica de difusión en agar.

- Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*.
- Evaluar la estabilidad físico-química de la formulación de la crema mucocutánea con aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. durante un periodo de 10 días bajo condiciones alternas de temperatura.
- Evaluar los límites microbiológicos de la crema a base de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl.

CAPÍTULO II. DESARROLLO DE LA PERSPECTIVA TEÓRICA

2.1. Marco Referencial

Piper elongatum Vahl., es una especie que tiene por sinonimia científica a *Piper aduncum* Lam. y *Piper angustifolium* [11,12] , y la mayor parte de investigaciones publicadas han sido reportadas como *Piper aduncum*.

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Peralta, *et al*. [3], en el 2024, investigaron en Brasil la composición química de los aceites esenciales (AE) de *Minthostachys setos*a y *Piper elongatum* Vahl.; asimismo, evaluaron la actividad antiestafilocócica y su efecto en la eliminación de biopelículas preformadas por *Staphylococcus aureus* en acero inoxidable. La cromatografía de gases reveló que el eucaliptol (10,84%) y el metil eugenol (9,29%) fueron los componentes principales del AE de *Piper elongatum* Vahl. Por otra parte, se observó que hubo una reducción de hasta 2,52 UFC log.cm^{-2} en los recuentos de células viables de *Staphylococcus aureus.* Concluyeron que el eucaliptol fue el compuesto de mayor cantidad, además demostró tener actividad antiestafilocócica y es un potencial para eliminar biopelículas de *Staphylococcus aureus* en superficies que se encuentran comúnmente en la industria alimentaria.

Tapuy [13] en el 2023, publicó su tesis sobre ‘’Elaboración de una crema con actividad cicatrizante a base de extracto hidroalcohólico de hojas *Piper aduncum L.* procedentes de la provincia del Napo, en Ecuador. Este estudio determinó cualitativamente presencia de flavonoides, taninos y triterpenos. También desarrolló la formulación final a la que evaluó las características fisicoquímicas y análisis microbiológico. Se obtuvo como resultado una crema cicatrizante que presentó parámetros establecidos dentro de los límites, logrando un producto final seguro en óptimas condiciones para su uso.

Bedón y León [14], en Ecuador, en el 2022, realizaron el estudio titulado ‘’Extracción del aceite esencial de matico (*Piper aduncum*) mediante el método de arrastre de vapor’’. Determinaron las mejores condiciones experimentales de extracción en relación al tiempo y masa/disolvente para obtener el mayor rendimiento. Se generó

17 corridas a diferentes tiempos (60, 90 y 120 min) y de masa/disolvente (1:3; 1:4 y 1:5 kg/L) a una temperatura constante de 100 ºC. El mejor resultado se obtuvo en la corrida número 2 (tiempo 120 minutos masa/disolvente 1:5 kg/l) con un rendimiento de 0,8843%, además en la composición química por cromatografía de gases acoplado a un detector de masas, se identificó 17 compuestos volátiles, donde los de mayor proporción fue el germacreno – D (32,37%) y 1,14 – Epoxiherberteno (24,73%), al analizar la actividad antioxidante por el método de FRAP y ABTS, se encontró 180,24 μmol Fe^{2+}/g y 90,23 μmol ET/g, respectivamente. Al evaluar la actividad antimicrobiana por el método de concentración mínima inhibitoria (CMI) se encontró una eficacia de 1 mg/l en las bacterias *Salmonella entérica* y *Staphylococcus aureus* y 0,5 mg/l para *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*

Da Silva, *et al.* [15], en el 2021, en Brasil, realizaron la investigación titulada ‘’Caracterización y evaluación de la bioactividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Piper arboreum* Aubl*., Piper aduncum* L. y *Piper gaudichaudianum* Kunth*",* que tuvo como objetivo determinar el perfil químico y evaluar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de especies de *Piper* y la modulación de la actividad antibiótica, utilizando el método de microdilución para determinar la concentración mínima inhibitoria. Los compuestos químicos se caracterizaron por GC-MS y se obtuvieron como resultados que el β-copaen-4α-ol (31,38%), espatulenol (25,92%) y germacreno B (21,53%) son los constituyentes mayoritarios de los aceites esenciales del *Piper arboreun* Aubl., *Piper aduncum* L. y *Piper gaudichaudianum* Kunth, respectivamente. Asimismo, estos aceites esenciales no presentaron actividad relevante frente a *Escherichia coli* pero si demostró actividad significativa frente a *Staphylococcus aureus* multirresistente y por último demostraron tener un efecto modulador sobre los antibióticos norfloxacino y gentamicina.

Mamood, *et al.* [16], en el 2017, en la Universidad Nacional de Malasia, reportaron su investigación titulada ‘’La formulación del aceite esencial de *Piper aduncum* Linnaeus (piperales:piperaceae) aumenta su eficacia como repelente de insectos’’. El estudio tuvo como objetivo evaluar la efectividad del aceite esencial (AE) de *Piper aduncum* en etanol al 10% y en tres formulaciones semisólidas diferentes (ungüento, crema y gel), cada formulación se aplicó a las manos de sujetos que luego insertaron en una jaula con 25 *Aedes aegypti* nulíparas. Se concluyó que las tres formulaciones pueden repeler >65% de *Aedes aegypti* a las 4 h posteriores a la

aplicación, siendo la crema y ungüento las que proporcionaron mayor tiempo de protección.

Brazáo, *et al.* [17], en Brasil, en el 2014. Evaluaron la actividad bactericida del aceite esencial y dillapiole de *Piper aduncum* frente a estándares y cepas de *Staphylococcus* spp multirresistentes, donde el aceite mostró acción antimicrobiana contra estas cepas, pero se obtuvo mejores resultados para las cepas de *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus* con MIC de 250 y 500 µg/ml, respectivamente, el dillapiole fue menos eficaz que el aceite contra las mismas cepas, sin embargo, cuando se probó el dillapiole en combinación con miristicina aumentó la actividad bactericida y mostró una acción sinérgica.

Tirillini, *et al.* [18], en 1996, en Italia, reportaron la composición química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper angustifolium*, el AE de esta especie se analizó mediante la técnica de cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC/MS). Se determinó como principales componentes al alcanfor y el canfeno. Este aceite exhibió actividades bacteriostáticas y fungistáticas contra *Trichophyton mentagrophytes, Pseudomonas aeruginosa, Candida albicans, Cryptococcus neoformans, Aspergillus flavus, Aspergillus fumigatus* y *Escherichia coli.*

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Rabanal y Salcedo [19], en el 2020, evaluaron en la Universidad Nacional Inca Garcilaso de la Vega, la actividad antioxidante y fotoprotectora de la crema gel elaborada con el extracto metanólico de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. Var. Salviaefolium (Miq.) Trel. (matico), para ello se trabajó con extractos (al ambiente, con rotavapor y en estufa), se utilizó métodos espectrofotométricos para la determinación de la capacidad antioxidante y para determinar el Factor de Protección Solar (FPS) por el método in vitro descrito por Mansur. Se obtuvo los siguientes resultados: hubo presencia de metabolitos secundarios (alcaloide, compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, quinonas y taninos), asimismo, la crema gel elaborado con el extracto metanólico de hojas de matico al 1%, presentó capacidad antioxidante de 163,919 µM por DPPH, y 121,400 µM por ABTS, y un factor de protección solar de 5,334.

Díaz C [4], en el 2019, investigó la actividad antibacteriana "*in vitro*" del aceite esencial del *Piper aduncum* sobre *Staphylococcus aureus*, que fue analizada en la Universidad de Jaén. Para ello se aplicó la técnica de Kirby Bauer para realizar el antibiograma con discos de sensibilidad problema (aceite esencial), control negativo (agua destilada estéril) y control positivo (Vancomicina 30 µg). Donde obtuvo los

siguientes resultados, el aceite esencial al 100% mostró un halo de inhibición de 15,28 mm, sin embargo, no superó a los halos de inhibición de la vancomicina (18,4 mm). Concluyendo que el aceite esencial del matico posee actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*.

Mendoza, *et al.* [20], en el 2018. Reportaron en la Universidad Nacional de Trujillo, el desarrollo de una crema de hojas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) con actividad fotoprotectora *in vitro*. La elaboración de la formulación se inició con la obtención del extracto por el método de percolación para el posterior diseño de la crema y los respectivos análisis organolépticos y fisicoquímicos. En una segunda etapa se determinó la actividad fotoprotectora *in vitro* de la crema por método espectrofotométrico en la región de la radiación ultravioleta tipo B (UVB) de 290-320 nm. Entre los resultados se obtuvo una concentración de 48,6 mg de extracto seco/ml, y la crema de tipo O/A tuvo aspecto homogéneo con un factor de protección solar (FPS) DE 2,29. Esta investigación concluye que la crema fotoprotectora solar desarrollada a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper aduncum* L. tiene un nivel de fotoprotección bajo según la clasificación de organismos internacionales.

Díaz [21], en 2018, realizó la investigación de "Aceites esenciales con potencial económico en tres especies del género Piper procedentes de la selva central del Perú", específicamente de Chanchamayo, analizado en la Universidad Nacional Agraria La Molina. Con el objetivo de contribuir al conocimiento de los aceites esenciales de interés económico presentes en las tres especies del género Piper (*P. aduncum, P. glabribacumm* y *P. reticulatum*), de las cuales se extrajeron los aceites esenciales y se realizó la caracterización física y de compuestos químicos de los aceites esenciales. Se obtuvo los resultados de las tres especies evaluadas el *Piper aduncum* es la especie con mayor potencial económico; asimismo, este aceite resultó ser más densa que el agua; y su principal componente es la Miristicina (91,6%).

Ingaroca, *et al*. [22], en el 2018, publicó su tesis sobre la composición química, actividad antioxidante y efecto fungistático sobre *Candida albicans* del AE de *Piper aduncum* L. ''matico'', desarrollado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. El AE se obtuvo mediante destilación por arrastre de vapor de agua y la composición química se determinó mediante cromatografía de gases/espectrometría de masas (CG/EM). La actividad antioxidante fue evaluada mediante los métodos DPPH y ABTS, en tanto que el efecto fungistático fue evaluado mediante el método de microdilución colorimétrica en caldo. Se identificaron 35 componentes químicos, los

principales compuestos volátiles fueron fenilpropanoides (1,2,4-trimetoxi-5-(1-propenil)- benceno (39,32%) y metileugenol (12,85%)), seguido de hidrocarburos sesquiterpenoides (germacreno D) (7,52%), entre otros. El AE mostró baja actividad antioxidante comparado con el estándar Trolox y exhibió bajo efecto fungistático comparado con ketoconazol (MIC <0,003 µg/ml).

2.1.3. Antecedentes Locales

Mauricio [23], en el 2024, investigó la variabilidad de las características fisicoquímicas y la composición química del aceite de *Piper elongatum* Vahl. que crecen en la región de Ayacucho. Donde se extrajo mediante hidrodestilación el aceite esencial de hojas recolectadas en dos localidades, Chacco y Luricocha. Se analizaron parámetros fisicoquímicos, composición química por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y actividad antioxidante mediante los métodos DPPH y ABTS. Los resultados indicaron que el aceite de Chacco presentó una densidad de 1,1203 g/ml y rotación óptica positiva, mientras que el de Luricocha tuvo una densidad menor, de 1,0498 g/ml, con rotación negativa. El compuesto principal en ambos fue apiol (96,15%), aunque en Luricocha mostró una mayor diversidad de terpenoides. Asimismo, el aceite de Luricocha presentó un contenido superior de fenoles totales (4,37 mg GAE/g) y mayor actividad antioxidante (79,34% en ABTS a 100mg/ml). Estos resultados evidencian que la variabilidad geográfica influye significativamente en las características fisicoquímicas y químicas del aceite esencial, sugiriendo la existencia de quimiotipos diferenciados entre ambas localidades.

Agüero [2], en el 2024, determinó las características físicas y la composición química del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. procedente de la provincia de Huamanga. El perfil químico se evaluó por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS), donde el análisis fisicoquímico reveló que el aceite esencial tiene una densidad de 1,1040 g/ml, un índice de refracción de 1,5204 y un ángulo de rotación de -7, 383º. En el perfil químico se encontró en una mayor cantidad al compuesto apiol (97,9%), seguido por el hexadecano (1,4%) y el cariofileno (0,6%). Concluyendo de que el aceite esencial del *Piper elongatum* Vahl tiene un alto potencial terapéutico, gracias a su alto contenido de apiol y moderada actividad antioxidante.

Martínez [24], en el 2016, publicó su tesis que estudió la formulación de jabón a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. desarrollado en la UNSCH, Ayacucho. El método empleado fue un diseño con pre prueba y post prueba de un solo grupo, cuyo parámetro principal fue la temperatura a 30º, 50º y

ciclado durante un periodo de 30 días. A las formulaciones piloto del extracto a 1%, 2% y 4% de concentración se les determinó pruebas organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas. Concluyendo que el jabón con mejor resultado en los ensayos fue el de 2% y en cuanto a los compuestos fenólicos presentes en el jabón se mantuvieron a temperatura de 30 °C.

2.2. Marco Teórico

2.2.1. *Piper elongatum* Vahl.

2.2.1.1. Clasificación Taxonómica y Descripción Botánica. *Piper elongatum* Vahl. pertenece a la familia Piperaceae, Género *Piper* (sin. = *aduncum Lam.*) [12]. Tradicionalmente es conocida como ‘’matico o hierba del soldado’’ [11].

Es una planta arbustiva de 2 a 8 metros de altura con tallos pubescentes, presenta hojas de hasta 20 cm de largo, oblongo – elípticas o lanceoladas, escabrosas en el haz y pubescentes en el envés, base ligeramente lobulada, alternas, dísticas [25].

Pecíolos cortos de hasta 8 cm, profilos presentes de hasta 25 mm. Inflorescencia entre 5 - 17 cm, formando espigas con aspecto arqueado de color crema a verde sobre pedúnculos de hasta 15 mm de largo. Perianto floral ausente. Presencia de androceo con cuatro estambres, anteras de 0,2 - 0,3 mm de largo. Brácteas florales de hasta 0,7 mm de ancho de forma triangular o redonda, densamente ciliadas de color blanco amarillento. Ovario con tres estigmas. Bayas de una sola semilla, redondeadas desde arriba y con semillas reticuladas [25].

2.2.1.2. Hábitat y Distribución Geográfica. El *Piper elongatum* Vahl. es una planta oriunda del Perú que también crece en los valles interandinos de Bolivia, Chile, Ecuador, Colombia, México y en el Asia [11]. En el Perú crece en las tres regiones: costa, sierra y selva, de 0 a 3000 metros de altitud. Crece de manera silvestre en clima templado y frío, de forma particular en lugar húmedos a orillas de riachuelos y de fangos. Dicha especie se ha reportado en los departamentos de Amazonas, Ayacucho, Cajamarca, Cusco, Huánuco, Junín, Lambayeque, Lima, Loreto, Madre de Dios, Pasco, Piura, San Martin, Ucayali [26,27].

2.2.1.3. Usos Tradicionales. *Piper aduncum* se usa tradicionalmente para tratar dolores de estómago, vaginitis, gripe, reumatismo, tos, fiebre e infecciones generales [28]. En México se emplea para tratar problemas urológicos, dermatológicos y tumores de la piel [29]. En la región del Caribe, las hojas y raíces se convierten en té y se utilizan como tratamiento de la diarrea, disentería, náuseas, úlceras e infecciones genitourinarias. Además de estos usos, el *P. aduncum* también se utiliza

tradicionalmente como agente antihemorrágico para controlar el sangrado [30]. Por otra parte su aceite esencial es un insecticida, molusquicida y antibacteriano muy conocido [25].

En África, así como en Jamaica, se emplea una infusión de hojas de *P. aduncum* para tratar dolencias del estómago, mientras que en Papua Nueva Guinea se utiliza como antiséptico [31].

En la medicina popular de Papua Nueva Guinea, el extracto de las hojas de *P. aduncum* se utiliza para tratar picaduras de insectos, curar heridas y la sarna, mientras que el extracto de las cortezas se emplea para el tratamiento del dolor de muela, diarrea, cortes, tos e infecciones fúngicas. Además, las raíces se utilizan para aliviar dolencias estomacales y respiratorias; mientras que los extractos del tallo y los frutos se utilizan para la cefalea y odontalgia, respectivamente. En la medicina tradicional de Indonesia, se utiliza para tratar quemaduras [32].

En américa latina, se han registrado usos populares de *P. aduncum* en Brasil, Colombia, Honduras y Perú. En la amazonia brasileña, las hojas de *P. aduncum* se utilizan para tratar dolores intestinales y estomacales, erisipela, cistitis, inflamación ginecológica, trastornos del tracto digestivo, cicatrización de heridas, pielitis, influenza y como repelente de insectos. Las culturas nativas de Honduras, usaban las hojas, frutos y tallos de *P. aduncum* para el tratamiento de trastornos femeninos, dolores, como limpiador digestivo y de la piel. En Colombia, los extractos de la planta se usan para tratar la disentería. Mientras que en Perú se utilizan para tratar la diarrea, y las partes aéreas se aplican contra afecciones reumáticas y como astringente, estíptico y antiséptico [32].

En otros países, las hojas y frutos de *P. aduncum* se utilizan como antimicótico, antimicrobiano y estíptico [32].

2.2.1.4. Composición Química. Las plantas medicinales, que forman una parte esencial de la medicina tradicional, han sido objeto de numerosas investigaciones debido a sus compuestos bioactivos y su potencial para tratar diversas enfermedades. En consecuencia, la comunidad científica a nivel global está cada vez más interesada en validar de manera rigurosa estas especies vegetales y los productos que se derivan de ellas [33].

Una gama de estudios ha demostrado que la composición del aceite esencial de *P. aduncum* presenta diferencias tanto en los compuestos presentes como en sus concentraciones, dependiendo de su procedencia. Factores como el clima, el tipo de

suelo y la ubicación geográfica influyen en estas variaciones. Almeida propone que esta variación química se forma por dos quimiotipos: uno de origen amazónico, rico en dillapiol, y otro predominante en la Mata Atlántica, donde se sintetizan terpenos como (E)-nerolidol y linalol, derivados de la ruta metabólica del mevalonato/acetato [34].

Otros estudios fitoquímicos reportan que el *P. aduncum* contiene una variedad de metabolitos secundarios, que se pueden agrupar en fenilpropanoides, derivados del ácido benzoico, cromenos y flavonoides [22,35].

Tabla 1

Composición química del aceite esencial de Piper aduncum realizado por CG/EM.

Componente	Contenido en la muestra (%)
β-mirceno	0,32
β-pineno	1,30
3-careno	0,19
β-trans-ocimeno	0,92
D-limoneno	0,42
β-ocimeno	2,34
Terpinoleno	1,06
Linalol	0,53
Alcanfor	2,99
Isoborneol	0,83
p-cimen-8-ol	0,31
Elixeno	0,54
α-cubebeno	0,28
α-copaeno	1,49
Metileugenol	12,85
8-Isopropenil-1,5-dimetil-ciclodeca-1,5-dieno	0,87
β-cariofileno	2,82
β-cubebeno	0,41
Aromadendreno	0,77
α-cariofileno	1,55
L-alloaromadendreno	0,56
Pentadecano	3,62
Germacreno D	7,52
α-muroleno	1,11
Biciclogermacreno	5,88
δ-cadineno	2,81
Elemicina	0,78
Asarona	39,32
Germacreno D-4-ol	0,56

Nota. CG/EM: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 acoplado a un espectrómetro de masas [22].

Tabla 1

Continuación…

Componente	Contenido en la muestra (%)
Espatulenol	1,41
Óxido de cariofilleno	0,56
α-cadinol	0,31
Apiol	0,48

Nota. CG/EM: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 acoplado a un espectrómetro de masas[22].

El aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. posee los siguientes compuestos bioactivos [23] (Ver Tabla 2).

Tabla 2

Composición química por GC-MS del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl.

Procedencia	Composición química		
	TR (min)	Compuesto	(%)
Chacco	20,5064	Hexano	3,850
	28,2095	Apiol	96,150
Luricocha	8,1696	Ɣ-terpineno	0,665
	9,6544	α-pineno	0,154
	9,7911	Careno (delta-3)	0,226
	16,5200	α-ilangeno	1,045
	18,2470	Cariofileno	1,277
	20,8900	Copaeno	7,609
	22,5760	(+) α-Muuroleno	0,359
	28,2590	Apiol	88,665

Nota. GC-MS: Cromatógrafo de gases acoplado a un espectrómetro de masas [23].

2.2.2. Extracción de Aceites Esenciales

Los aceites esenciales (AE) constituyen metabolitos secundarios de origen vegetal, sintetizados por distintos órganos de la planta almacenados en estructuras específicas. Cumplen funciones clave en la defensa y adaptación al estrés ambiental[36]. La mayoría de AE son líquidos volátiles a temperatura ambiente, incoloros y su fragancia depende del órgano, la especie y el origen de la planta. Presentan propiedades ópticas destacables, como un alto índice de refracción y un marcado poder rotatorio, junto con una densidad menor que la del agua [37].

Los AE se componen de una diversidad de estructuras biosintetizadas mediante dos rutas metabólicas principales: la vía del metil-eritritol fosfato y la vía del ácido shikímico. La primera ocurre en los cloroplastos y produce unidades de isopreno activo,

originando hidrocarburos terpénicos (terpenos) y sus derivados oxigenados (terpenoides). La segunda ruta conduce a la formación de aminoácidos aromáticos, precursores del fenilpropano, del cual derivan compuestos alifáticos, cíclicos o aromáticos, como alcoholes, cetonas, fenoles y ésteres, entre otros [37,38].

En cuanto a su extracción, la selección del método depende de factores como la especie vegetal, la parte de la planta utilizadas y la estabilidad del AE. La aplicación adecuada de técnicas físicas y químicas es crucial para garantizar la calidad del producto final. No obstante, es fundamental destacar que, incluso con avances tecnológicos, el rendimiento del proceso está limitado por la calidad inicial del material vegetal [39].

2.2.3. Actividad Antibacteriana

La actividad antibacteriana permite evaluar el efecto inhibitorio de una especie vegetal o sus derivados sobre el crecimiento bacteriano.

2.2.3.1. Efecto sobre *Staphylococcus aureus.* El *Piper elongatum* Vahl., es una planta que ha demostrado tener propiedades antiestafilocócicas. El análisis fitoquímico de su aceite esencial, extraído de las hojas, reveló la presencia de compuestos bioactivos como eucaliptol; metil eugenol [3]; así como apiol; trans – β – cariofileno [15]; germacreno – D; 1,14 – Epoxiherberteno [15]; dillapiol, miristicina [17]. Estos metabolitos actúan de forma sinérgica, contribuyendo a su acción inhibitoria contra *Staphylococcus aureus.*

2.2.3.2. Efecto sobre *Bacillus subtilis.* El aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl., ha demostrado actividad antibacteriana contra *Bacillus subtilis* [5], atribuida a su perfil fitoquímico. Investigaciones preliminares realizadas por el Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos de la UNSCH respaldan estos hallazgos, confirmando su eficacia contra ambas bacterias. Este efecto se asociaría a la presencia de metabolitos secundarios lipofílicos en su composición, capaces de alterar la integridad de membranas bacterianas [6].

2.2.4. Métodos para Evaluar la Actividad Antibacteriana

La determinación *in vitro* de la susceptibilidad bacteriana frente a agentes antimicrobianos implica el uso de metodologías estandarizadas, cuyos resultados pueden varias según la sensibilidad del método empleado, las características del microorganismo analizado y la solubilidad del compuesto evaluado [40]. Estas técnicas se clasifican en tres categorías principales [41]:

- Método de difusión:

Se ha usado ampliamente para evaluar extractos vegetales con potencial antimicrobiano, se basa en la difusión de compuestos polares en medios sólidos (discos o pozos). Su principal ventaja radica en su alta reproducibilidad. El método de Kirby-Bauer, estandarizado por el subcomité del NCCLS (EE.UU.), permite cuantificar el efecto inhibitorio de sustancias individuales sobre cepas bacterianas aisladas de procesos infecciosos. El fundamento técnico consiste en base a la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento generado en placas de agar inoculadas homogéneamente. Para ello, se emplean discos de papel filtro (6mm) o pozos impregnados con una cantidad estandarizada del compuesto, depositados sobre el medio sembrado con el microorganismo a evaluar [41].

- Método de dilución

Estos métodos aplicables a sustancias polares y no polares, permiten la determinación cuantitativa de la concentración mínima inhibitoria (MIC) y la concentración mínima bactericida (MBC). En la dilución en caldo se utilizan tubos o microplacas con concentraciones seriadas del extracto, donde se inocula el microorganismo; tras incubación, se identifica la MIC como la menor concentración que previene el crecimiento visible. Por otro lado, la dilución en agar implica incorporar el extracto en concentraciones definidas dentro del medio solidificado, seguido de la siembra por estría del patógeno. La ausencia del crecimiento tras 24 horas de incubación indica actividad inhibitoria [41].

- Bioautografía

La bioautografía es una técnica derivada del método de difusión en agar que se utiliza para evaluar la actividad antimicrobiana de extractos crudos, colocando inicialmente la muestra sobre una placa de cromatografía en capa fina (CCF). Posteriormente, los componentes del extracto se separan mediante elución con una mezcla adecuada de solventes. La CCF es especialmente útil para separar compuestos naturales porque, tras la elución, el solvente se evapora, evitando que este interfiera en la actividad antimicrobiana.

Esta técnica funciona como un tamiz fitoquímico preliminar para detectar compuestos que inhiben el crecimiento microbiano en mezclas compleja, facilitando la purificación guiada por bioensayos. Los métodos bioautográficos se clasifican en tres

tipos principales: bioautografía por contacto, bioautografía directa y bioautografía por inmersión o superposición de agar [41].

2.2.5. Fitocosméticos

La fitocosmética estudia el uso de las materias primas provenientes de origen vegetal (fitoingredientes) en el desarrollo de productos cosméticos y de higiene personal, con el objetivo de ejercer funciones específicas como hidratación, protección o regeneración cutánea. Estos fitoingredientes corresponden a sustancias procesadas derivadas de plantas frescas o desecadas, secreciones vegetales (resinas), aceites esenciales o metabolitos aislados mediante técnicas de extracción especializadas, cuya composición química suele ser multifactorial y variada [42].

Un cosmético se define como una formulación de acción superficial, aplicada tópicamente sobre la piel, cabello o uñas, diseñada para limpiar, proteger, nutrir o mejorar la apariencia física. Los ejemplos incluyen a cremas, lociones, ungüentos, jabones de tocador, desodorantes, entre otros [43].

Los componentes fundamentales de la formulación cosmética incluyen tanto ingrediente funcional base (emolientes, humectantes, espesantes, emulsionantes, conservantes y estabilizadores) como principios activos biológicos (antioxidantes, pigmentos naturales y aceites esenciales) [44].

La industria cosmética experimenta un crecimiento dinámico, impulsado por la demanda de alternativas naturales que compitan con los compuestos sintéticos convencionales. Este fenómeno refleja una tendencia hacia la cosmética verde, donde la biodiversidad vegetal se posiciona como fuente estratégica para la innovación sostenible, incentivando la investigación de fitoingredientes novedosos con perfiles de eficacia y seguridad optimizados [43].

2.2.6. Formulación a Base de Aceites Esenciales

2.2.6.1. Desarrollo de Formulaciones. El éxito de un producto depende en gran medida de una adecuada planificación del proceso de investigación y desarrollo, junto con las etapas necesarias para garantizar que la fabricación cumpla con el concepto y las características críticas definidas. Inicialmente, se lleva a cabo un estudio de mercado que identifica las necesidades predominantes a resolver, además de detectar fortalezas y deficiencias para el desarrollo del producto. Este proceso incluye la consulta de normativas sanitarias, revisión de literatura científica, conocimiento tecnológico, evaluación de instalaciones y equipos, laboratorios de control de calidad y

análisis de materias primas, materiales de empaque, productos intermedios y costos asociados [45].

En la etapa de planificación del producto, se enfatiza la formulación inicial y especificaciones preliminares, la realización de pruebas de compatibilidad entre ingredientes, evaluación de sistemas de empaque y cierre, ensayos de laboratorio y la evaluación preliminar de la estabilidad del producto. Por otro lado, la planificación del proceso productivo contempla la definición detallada de las etapas y parámetros de control durante la fabricación [45].

Posteriormente, se realiza una producción piloto a escala industrial en condiciones reales, para determinar costos, márgenes de utilidad y realizar pruebas de estabilidad acelerada. Luego, se escala el proceso, estableciendo el tamaño del lote, identificando variables críticas, estandarizando el proceso y efectuando pruebas de estabilidad natural bajo condiciones comerciales reales [45].

En función del ciclo de vida del producto, cada laboratorio asigna recursos, tiempos y actividades específicas a las etapas de investigación y desarrollo. La Organización de las Naciones Unidas para el Desarrollo Industrial (ONUDI) recomienda realizar distintas pruebas de estabilidad según la fase del ciclo de vida y la complejidad de la fórmula, con el objetivo de fortalecer la estabilidad y calidad del producto final [45].

2.2.6.2. Estabilidad de Formulaciones. La estabilidad de un producto se entiende como la capacidad de una formulación, ya sea en el ámbito farmacéutico, cosmético, entre otros, para conservar sus parámetros de calidad dentro de los límites definidos por el fabricante, durante el periodo de vida útil establecido y utilizando un material de envase especifico. Esta propiedad no es absoluta, ya que está sujeta a variaciones a lo largo del tiempo, influenciada por factores que puedan acelerar o ralentizar posibles cambios en las características del producto [10,45].

En otras palabras, la estabilidad de una formulación hace referencia a su capacidad para preservar sus atributos físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales a lo largo del tiempo, siempre que se mantenga bajo condiciones controladas de almacenamiento y uso.

2.2.6.3. Problemas de Estabilidad. La estabilidad de un producto puede verse influenciada por cada uno de sus componentes, sean activos o inactivos. Tanto la formulación, el proceso de fabricación como el tipo de material de envasado pueden intervenir en la conservación de sus propiedades. Según su origen, los factores que

afectan la estabilidad se clasifican en dos grandes grupos: extrínsecos e intrínsecos [10,21].

- Factores extrínsecos: Se refiere a factores externos a los cuales el producto está expuesto durante su manufactura y almacenamiento, tales como:
  - Temperatura ambiental
  - Humedad relativa
  - Intensidad de luz
  - Aireación (oxigeno, anhídrido carbónico y otros gases)
  - Material de acondicionamiento
  - Microorganismos
  - Vibraciones
- Factores intrínsecos: Son aquellos factores relacionados con la naturaleza propia de las formulaciones, que sobre todo deriva de la interacción de los ingredientes entre sí y con el material de envase y acondicionado.
  - Incompatibilidad física: precipitaciones, cristalizaciones, separación de fases, generación de grietas, entre otras.
  - Incompatibilidad química: reacciones de óxido-reducción manifestando alteraciones en las características organolépticas de las formulaciones y reacciones de hidrólisis evidenciando cambios en la apariencia.
  - Interacción entre los ingredientes de la formulación que pueden anular o alterar la actividad deseada.
  - Interacción entre ingredientes de la formulación y el material de acondicionamiento que puede acarrear modificaciones a nivel físico o químico entre estos componentes.

2.2.6.4. Estabilidad y Evaluación de las Características de la Formulación.

La estabilización de las formulaciones es un proceso complejo que involucra diversas etapas, las cuales deben ejecutarse cuidadosamente siguiendo protocolos establecidos. Estos procedimientos garantizan que el producto mantenga sus propiedades físicas, químicas y microbiológicas durante todo su periodo de vida útil. Los parámetros que se evalúan en las pruebas de estabilidad son definidos por el formulador y varían según las características específicas del producto y los componentes utilizados en su formulación [10].

Entre los principales parámetros evaluados se incluyen:

- Evaluación organoléptica: Se examinan aspectos como la apariencia, color, aroma, textura al tacto y sabor, en caso sea relevante para el producto [10].
- Evaluación físico-química: Estos análisis permiten detectar posibles problemas de estabilidad entre los ingredientes. Se miden variables como el tamaño de partícula, pH, contenido de humedad, viscosidad, comportamiento ante centrifugación, densidad, granulometría, conductividad eléctrica y concentración del principio activo cuando corresponda [10].
- Evaluación microbiológica: Estas pruebas sirven para confirmar la efectividad del sistema conservante elegido y para identificar posibles interacciones entre los componentes que puedan afectar dicha eficacia. Los ensayos más comunes incluyen el recuento microbiano y la prueba de desafío del sistema conservante [10].

2.2.7. Estudios de Estabilidad

Los estudios de estabilidad representan una herramienta metodológica crítica en el desarrollo cosmético, orientada a predecir y documentar alteraciones organolépticas, fisicoquímicas o microbiológicas en productos expuestos a factores ambientales como temperatura, humedad, radiación lumínica y vibración [45].

Estos análisis garantizan que el producto mantenga sus especificaciones de calidad dentro de los límites establecidos por el fabricante durante su vida útil, considerando las interacciones con el material de envase y las condiciones de almacenamiento. La estabilidad cosmética es una propiedad dinámica y contextual, sujeta a variaciones temporales y a factores externos que modulan la cinética de degradación de sus componentes [10].

Dentro de los tipos de estudios de estabilidad, se encuentra [10]:

- Estabilidad preliminar: Realizado en etapas iniciales de diseño, evalúa formulaciones prototipo a escala de laboratorio bajo condiciones de estrés como someter la formulación a ciclos térmicos extremos. Su objetivo es identificar inestabilidades tempranas (coalescencia, sedimentación, separación de fases, cambios de pH) y validar la integridad funcional de los excipientes y principios activos, de tal modo que confirma si conservan o no las características deseadas en el producto.
- Estabilidad acelerada: También denominados estudios de corto plazo. Estos estudios simulan condiciones ambientales extremas para inducir alteración

acelerada en sus características organolépticas, fisicoquímicas y/o microbiológicas, así como cambios en algunas estructuras de interés.

- Estabilidad natural: Valida los resultados de los estudios acelerados bajo condiciones de almacenamiento realistas, confirmando el tiempo de vida útil asignado y los límites críticos de calidad. De tal modo que constituye la prueba definitiva para la comercialización.

2.3. Marco Conceptual

Densidad a 20º de un AE. – Es la relación entre el peso de una cantidad definida de aceite esencial (AE) y el espacio que ocupa, medidos a 20º C. Su unidad de medida es gramos por mililitro (g/ml) y se representa con el símbolo ρ_{20} [21].

Índice de refracción. – Es el cociente entre el seno del ángulo con el que incide un haz de luz de una longitud de onda concreta y el seno del ángulo refractado al atravesar el AE, manteniendo una temperatura estable [21].

Concentración inhibitoria mínima. – La concentración inhibitoria mínima (CIM) se define como la mínima concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 horas de incubación a 37º C [46].

2.4. Marco Ético y Legal

- Resolución Ministerial Nº 197 – 2021 – MINSA; esta resolución establece la Guía Técnica para Colecta de Plantas Medicinales en el Perú, cuyo objetivo principal es regular las prácticas de recolección de plantas con fines medicinales, garantizando su manejo sostenible y su uso responsable en beneficio de la salud pública. Se enfoca en asegurar que la colecta de las especies vegetales se realice de manera ética, respetuosa con el medio ambiente y las comunidades locales, promoviendo la conservación de la biodiversidad [47].
- Resolución de Dirección Ejecutiva Nº 136-2016-SERFOR; esta resolución aprueba los lineamientos para la elaboración de declaraciones de manejo que buscan garantizar el aprovechamiento sostenible de productos forestales que no sean madera, en asociaciones vegetales no boscosas. El objetivo es asegurar que el manejo de estos productos se haga de forma sostenible, respetando los ecosistemas y promoviendo su conservación. Los lineamientos defines los requisitos técnicos y los procedimientos para la elaboración de las declaraciones de manejo, las cuales son necesarias para el aprovechamiento legal y controlado de productos forestales,

tales como plantas medicinales, frutos, fibras, entre otros. Estos lineamientos son fundamentales para evitar la sobreexplotación y promover prácticas de manejo responsable de los recursos naturales no maderables [48].

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Alcance de Investigación

El alcance de la investigación es de tipo descriptivo [49].

3.2. Diseño de Investigación

Esta investigación tiene las siguientes características de diseño:

- **Diseño pre experimental**: Porque hay un grado de control mínimo con observación después.

  El diseño se presenta en el siguiente esquema:

$$G \longrightarrow x \longrightarrow O$$

Donde G es el aceite esencial, x son las condiciones experimentales (medio de cultivo, cepas, tiempo y temperatura), y O son parámetros experimentales (halos de inhibición y CIM)

- **Diseño pre experimental**: Porque hay un grado de control mínimo con observación antes y después.

  El diseño se presenta en el siguiente esquema:

$$G \longrightarrow O_a \longrightarrow x \longrightarrow O_b$$

Donde G es la formulación, O_a son los parámetros físicos y químicos al inicio del estudio, x son las condiciones de almacenamiento (tiempo y temperatura) en el estudio de pre-estabilidad y O_b son los mismos parámetros físicos y químicos al término del estudio de pre-estabilidad.

3.3. Unidad de Análisis

Aceite esencial de hojas de *Piper elongatum* Vahl. y crema mucocutánea a base de dicho aceite.

3.4. Población de Estudio

Aceite esencial de hojas de *Piper elongatum* Vahl. que crecen en el anexo de Chacco y crema mucocutánea a base de dicho aceite.

3.5. Muestra

La muestra estuvo conformada por:

- 30 ml de aceite esencial de hojas de *Piper elongatum* Vahl. provenientes del anexo de Chacco, distrito de Quinua.
- 100 g de crema O/A al 3% a base del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl.

3.6. Criterios de Selección

3.6.1. Criterios de Inclusión

- Para el aceite esencial: Hojas maduras (estado de madurez uniforme), y hojas libres de daños visibles o signos de descomposición.
- Para la crema O/A: Formulación elaborada con aceite esencial de calidad y concentración adecuada.

3.6.2. Criterios de Exclusión

- Para el aceite esencial: Muestras en estado de putrefacción o con presencia de contaminantes de tierra u otras sustancias extrañas.
- Para la crema O/A: Formulación con concentración incorrecta de aceite esencial y con signos de contaminación o impurezas.

3.7. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

3.7.1. Material Vegetal

Los ejemplares de *Piper elongatum* Vahl. fueron recolectados en el mes de noviembre en el anexo de Chacco, distrito de Quinua, provincia de Huamanga, departamento Ayacucho, Perú. Las coordenadas geográficas corresponden a 13º05'39'' latitud sur, 74º13'04'' longitud oeste y una altitud de 2463 msnm (Anexo 2).

Se recolectaron hojas maduras, eliminándose las hojas dañadas. Luego se lavaron y orearon bajo sombra en un ambiente ventilado. Las hojas secas fueron embaladas, codificadas y trasladas al laboratorio de Tecnología de Productos naturales del Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fitomedicamentos (CEDACMEF). Se disminuyó manualmente el tamaño de las hojas entre 2 a 3 cm con la finalidad de aumentar la superficie de contacto y con ello favorecer la salida del aceite [21].

3.7.2. Análisis de las Hojas

El análisis de las hojas de matico se realizó según lo establecido por la Farmacopea Europea versión 10.0 [50].

a. **Humedad.** Se determinó en una termobalanza OHAUS 290, a una temperatura de secado de 100 ºC en rampa y la humedad se determinó con un punto de variabilidad de peso de 1 mg/ 30 seg.

b. Determinación del Rendimiento del Aceite Esencial. Se determinó mediante destilación por arrastre de vapor. La destilación se realizó durante 4 horas a presión y temperatura constante [50]. Una vez culminada la destilación se procedió a medir el volumen de AE obtenido. Se adicionó sulfato de sodio anhidro al AE para eliminar el agua residual. El AE fue almacenado en un frasco ámbar a -8 ºC hasta su análisis [12]. Para determinar el rendimiento empleó la siguiente fórmula:

$$Rendimiento\ (\%) = \frac{Masa\ del\ aceite\ esencial\ (g)}{Masa\ seco\ de\ la\ muestra\ (g)} \times 100$$

3.7.3. Análisis Físico del Aceite Esencial

El La medición de la densidad se realizó mediante picnometría; el índice de refracción por refractometría, según la Norma Técnica Peruana (NTP 319.075:1974)[21].

a. Densidad. Se medió según la Norma Técnica Peruana (NTP 319.075: 1974)[21] por triplicado. Para ello, se utilizó un picnómetro para pesar volúmenes iguales del AE a 20 °C. La densidad se calculó mediante la siguiente fórmula:

La densidad ρ^{20} en gramos por mililitro es:

$$\rho_{20}\ (g/mL) = [0{,}99718] \times [(P_2 - P)(P_1 - P)]$$

La densidad relativa ρ_{20}^{20} es:

$$\rho_{20}^{20}\ (g/mL) = [0{,}99718] \times [(P_2 - P)(P_1 - P)]$$

Dónde: P es el peso (g) del picnómetro; P1 es el peso (g) del picnómetro lleno de agua a 20 °C; P2 es el peso (g) del picnómetro lleno de AE a 20 °C.

b. pH. Para determinar el pH se utilizó un potenciómetro digital, las determinaciones se realizaron a 25 °C por triplicado, el equipo fue previamente calibrado [21].

c. Índice de Refracción. Se medió según la Norma Técnica Peruana (NTP 319.075: 1974) [21]. Se medió el ángulo de refracción del aceite esencial mantenido a condiciones de transferencia e isotropismo siendo la longitud de onda de la luz de 589,3 nm, que corresponde a la línea D del sodio y siendo la temperatura de 20 °C. El índice de refracción se medió con un refractómetro de mesa. Efectuada la lectura se procedió a expresar los resultados.

Sea $n_D^{t'}$ el valor de la lectura a la temperatura t´, el índice de refracción $n_D^{t'}$ a la temperatura de referencia t, es dado por la siguiente formula:

$$n_D^{t'} = n_D^t + a \times (t' - t)$$

En general y salvo indicaciones contrarias, se menciona que $a = 0{,}0004$.

El índice de refracción del aceite esencial se expresó por un número de cuatro decimales.

3.7.4. Análisis Químico del Aceite Esencial

El perfil químico fue determinado por cromatografía gaseosa acoplada a espectroscopía de masas (GC-MS) equipado con una columna TR-5MS (30 m × 0,25 mm ID × 0,25 µm de espesor de película). Los parámetros de corrida fueron los siguientes: volumen de muestra 1 µL, modo Split 0,4 ml/min con flujo constante y se utilizó hexano como solvente. Las condiciones operativas fueron las siguientes: la programación de la temperatura de la columna para GC empezó en 60 ºC y se mantuvo durante 3 minutos, luego se incrementó a 15 ºC/min hasta 150 ºC por 15 minutos. Y finalmente 10 ºC/min hasta 200 ºC por 5 minutos. Los componentes fueron identificados por análisis comparativo de los espectros de masa frente a la base de datos del sistema GC/MS (Nist library y GCMS DB-PUBLIC-KOVATSRI-VS3.MSP Library) junto con los índices de retención relativos. La cuantificación relativa de los compuestos se determinó a partir de la integración de las áreas de los picos correspondientes en los cromatogramas obtenidos [23].

3.7.5. Evaluación de la Actividad Antimicrobiana

Se realizó el procedimiento de difusión en agar con disco, tal como lo indican Jorgensen y Ferraro [51]. Para determinar la actividad antimicrobiana se utilizaron las cepas *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.* Obteniendo las cepas se cultivaron en tubos conteniendo agar soja tripticasa (TSA), se incubaron a 37 ºC por 24 horas. Luego se diluyeron en solución salina fisiológica hasta obtener una turbidez semejante a 0,5 de la Escala de Mc Farland. El aceite esencial se trabajó a concentración del 100%. Para la preparación de las placas se utilizó agar mueller hinton, previamente constituidos y esterilizados. Una vez solidificadas las placas, estos fueron inoculados con 100 µl de suspensión del inóculo por cada 25 ml de agar. Como control positivo se usó ciprofloxacino (5 µg/disco). Luego se impregnó discos de papel secante de 6 mm de diámetro con el aceite esencial al 100% y se incorporó en las placas que contienen agar muller hinton, para llevar a incubación en estufa a 35 °C ± 2 °C por 24 horas. De igual modo se trabajó para las muestras emulsionadas con Tween 20 y 80, a concentraciones de 10%, 25% y 50% con su respectivo blanco y control positivo. Finalmente, la actividad se determinó observando las zonas de inhibición del crecimiento (halos) y midiendo los diámetros en mm [51].

3.7.6. Evaluación de la Concentración Inhibitoria Mínima

El efecto antibacteriano del aceite esencial fue evaluado mediante el método de microdilución en placas de 96 pocillos de acuerdo a la metodología de Sánchez [41].

Este ensayo se basa en la reducción del indicador redox resazurina no fluorescente (azul) a resofurina fluorescente (rosa) por las células activas o viables, dando una medida cuantificable directa de la actividad metabólica. El medio de crecimiento líquido contiene concentraciones geométricamente crecientes del aceite esencial, el cual es inoculado con un número definido de células bacterianas. Para la preparación del inóculo, algunas colonias fueron transferidas a un tubo de ensayo que contenía solución salina estéril 0,9% hasta alcanzar un grado de turbidez semejante al tubo 0,5 de la escala de Mc Farland. Para la preparación de la muestra, el aceite esencial se diluyó con Caldo mueller hinton, empleando Tween 80 para emulsionar el aceite. Los pocillos de la columna 1 actúan como control de esterilidad, los pocillos de la columna 12 como control de crecimiento y los pocillos de las columnas 2 a 11 actúan como una serie de diluciones dobles seriadas de la muestra de aceite esencial y ciprofloxacino. Las microplacas se incubaron a 37º C por 24 horas en condiciones aeróbicas. Las lecturas de los resultados se determinaron visualmente y se expresaron como concentración inhibitoria mínima [51].

3.7.7. Pruebas de Estabilidad Preliminar

Los parámetros a evaluar en los productos sometidos a pruebas de estabilidad deben ser definidor por el formulador y dependen de las características del producto en estudio[10]. En este caso, se formuló una crema O/A al 3% a base de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl., en la Farmacia Especializada ‘’Maspharma’’. Donde se emplearon materias primas como: Cera lanette SX (15,0%), Cetiol V (7,0%), y 0,10% de butilhidroxitolueno (BHT), correspondiente a la fase oleosa (F.O); para la fase acuosa se empleó phenonip (1,50%) como conservante, propilenglicol (6,50%) y agua (66,90%). Y como componente activo al aceite de matico (3,0%) correspondiente a la fase externa. El modus operandi desarrollado fue:

- Fase oleosa (F.O):
  - Se pesó la Cera lanette SX, Cetiol V, aceite de matico y BHT.
  - Se fundió a baño maría suave hasta 70-75 °C con agitación continua.
  - Una vez fundido completamente, se mantuvo la mezcla homogénea.
- Fase acuosa (F.A):

- Se pesó agua, propilenglicol y phenonip.
- Se calentó la fase acuosa a la misma temperatura (70-75 °C). Cuando ambas fases estén a temperatura, se vertió lentamente la fase acuosa sobre la oleosa con agitación constante y moderada.
- Se continuó agitando hasta formar una emulsión homogénea.

- Enfriamiento

- Se continuó la agitación suave durante el enfriamiento hasta alcanzar temperatura ambiente, luego se agregó el aceite de matico con agitación continua leve y por último se envasó en recipiente ámbar con su respectiva etiqueta.

La estabilidad de la crema formulada fue evaluada durante un periodo de 10 días, sometiéndola a ciclos alternos diarios en dos condiciones de temperatura: en estufa (50 °C $\pm$ 2 °C) y congelador (-5 °C $\pm$ 2 °C). Durante este tiempo, se realizaron análisis fisicoquímicos diarios. Adicionalmente, se realizó un frotis con 0,2 g de crema en el cristal de reloj, al inicio, al 5º día y al 10º día para evaluar la homogeneidad de la formulación y posible formación de bultos o separaciones. Estos análisis permitieron verificar la estabilidad fisicoquímica y microbiológica de la crema bajo condiciones de temperatura extremas, conforme a las directrices establecidas por ANVISA [10], considerando las siguientes pruebas:

a. **Pruebas Organolépticas:** Las características organolépticas determinan los parámetros de aceptación del producto por el consumidor. Por ello se evaluó el aspecto, color y olor [10].
b. **Pruebas Fisicoquímicas:** Las alteraciones en la estructura de la formulación que no son perceptibles a simple vista también son esenciales para la evaluación de la estabilidad del producto. Por ello se evaluó el pH y se realizó la prueba de centrifuga a 3000 RPM durante 30 minutos para detectar posibles signos de alteración [10].
c. **Pruebas Microbiológicas**: La seguridad microbiológica de la crema fue evaluada mediante el recuento microbiano de microorganismos mesófilos, hongos filamentosos y levaduras. Además, se realizó una detección específica para bacterias patógenas como *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia Coli* [10].

3.8. Análisis de Datos

Para la contrastación de hipótesis se tiene las siguientes consideraciones: la pregunta de investigación es de comparación de dos grupos (antes y después), la escala de medición de razón. Por tanto, se usó la prueba de T de Student de muestras relacionadas al 95 % de nivel de confianza [49]. Para ello, primero se realizó la prueba de normalidad, prueba de homogeneidad de varianzas de Levene [49]. Los resultados se presentan mediante tablas y/o figuras. Y para el análisis de datos se utilizó el software SPSS.

3.9. Consideraciones Éticas

Entre las consideraciones éticas se tuvo en cuenta la Resolución Ministerial Nº 197 – 2021 – MINSA [47], y la Resolución de Dirección Ejecutiva Nº 136-2016-SERFOR [48].

CAPÍTULO IV. RESULTADOS

Tabla 3

Parámetros fisicoquímicos del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.

Humedad (%)	Rendimiento (%)	Densidad (g/ml)	pH	IR
10,33 ± 0,17	1,197 ± 0,001	1,1327 ± 0,0008	5,81 ± 0,01	1,5235 ± 0,0001

Nota. IR: Índice de refracción. El promedio corresponde a tres repeticiones con su respectivo error estándar de la media.

Tabla 4

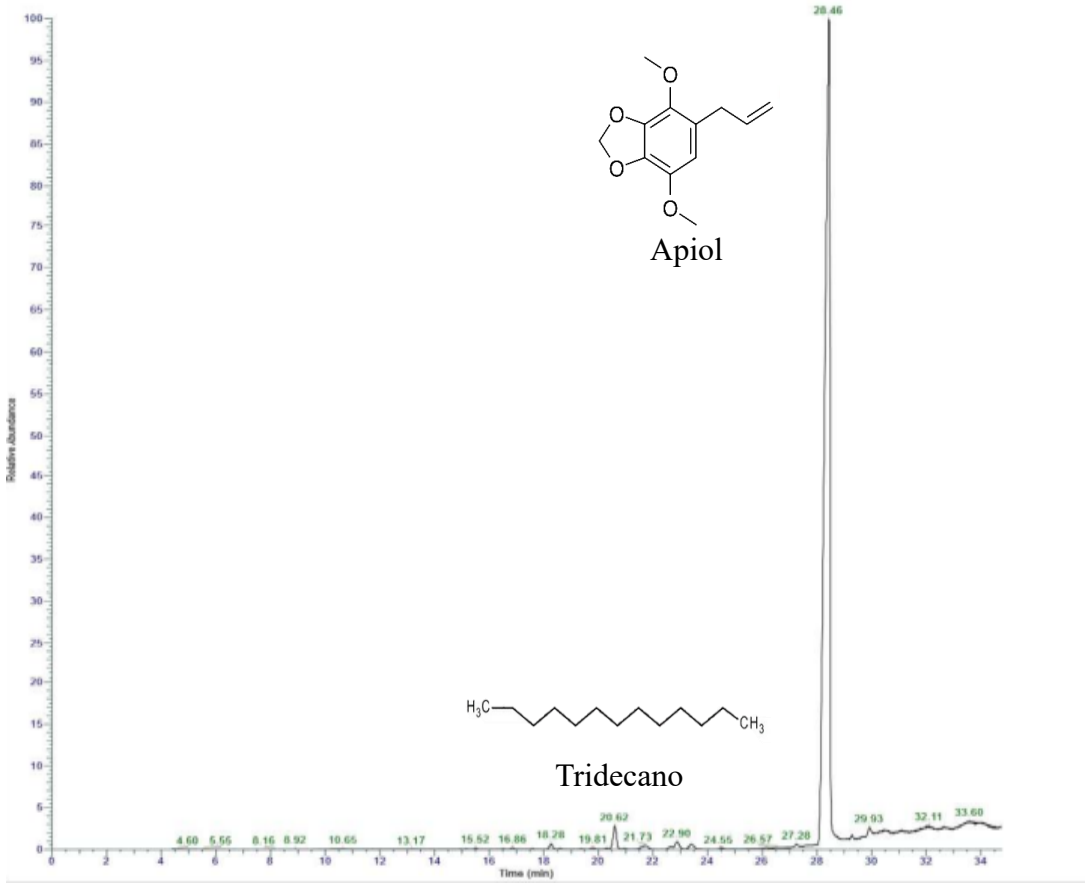
Composición química del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.

TR (min)	Compuesto	(%)
8,9186	Gamma terpineno	0,02
16,8462	Copaeno	0,08
18,2780	Cariofileno	0,44
20,6167	Tridecano	1,70
22,9026	(+) Alfa-muuroleno	0,30
28,4600	Apiol	97,24
29,2753	Dodecanol	0,22

Nota. Biblioteca referencial: Nist library y GCMS DB-PUBLIC-KOVATSRI-VS3. MSP Library

Figura 1

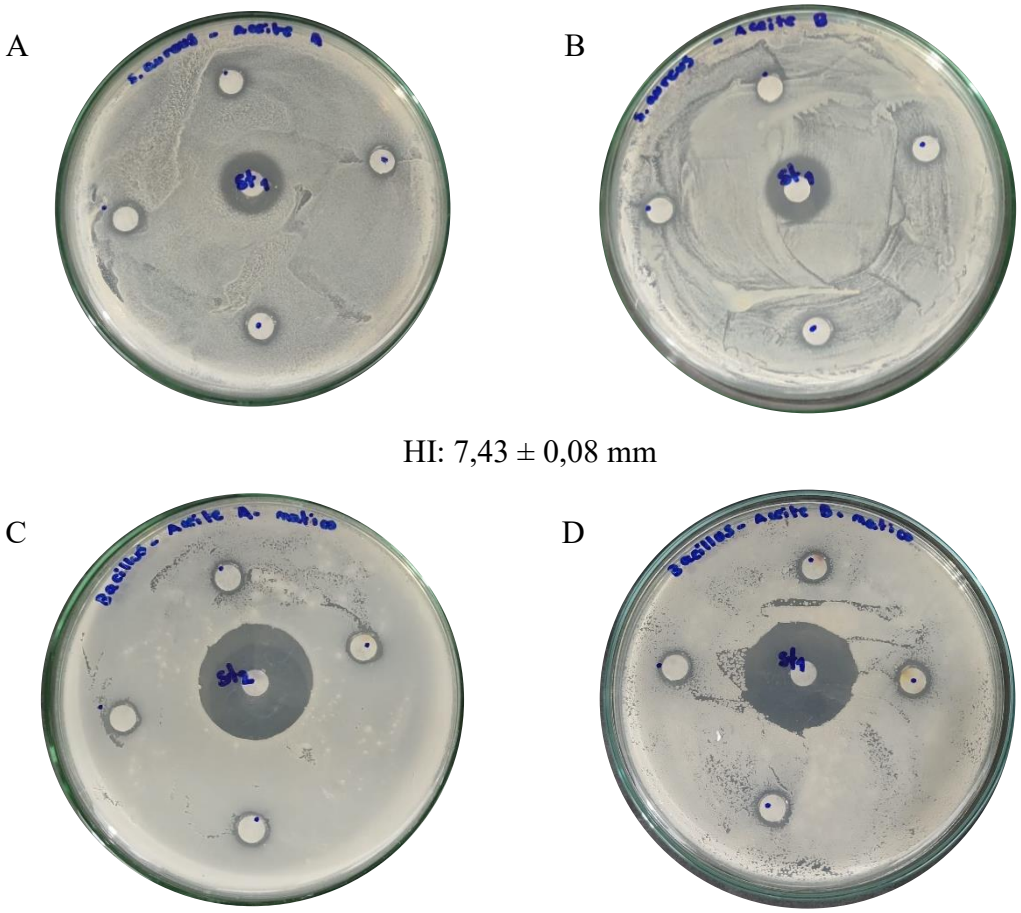
Cromatograma GC-MS del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.



Nota. El pico más alto indica la abundancia relativa correspondiente al apiol (97,24%).

Figura 2

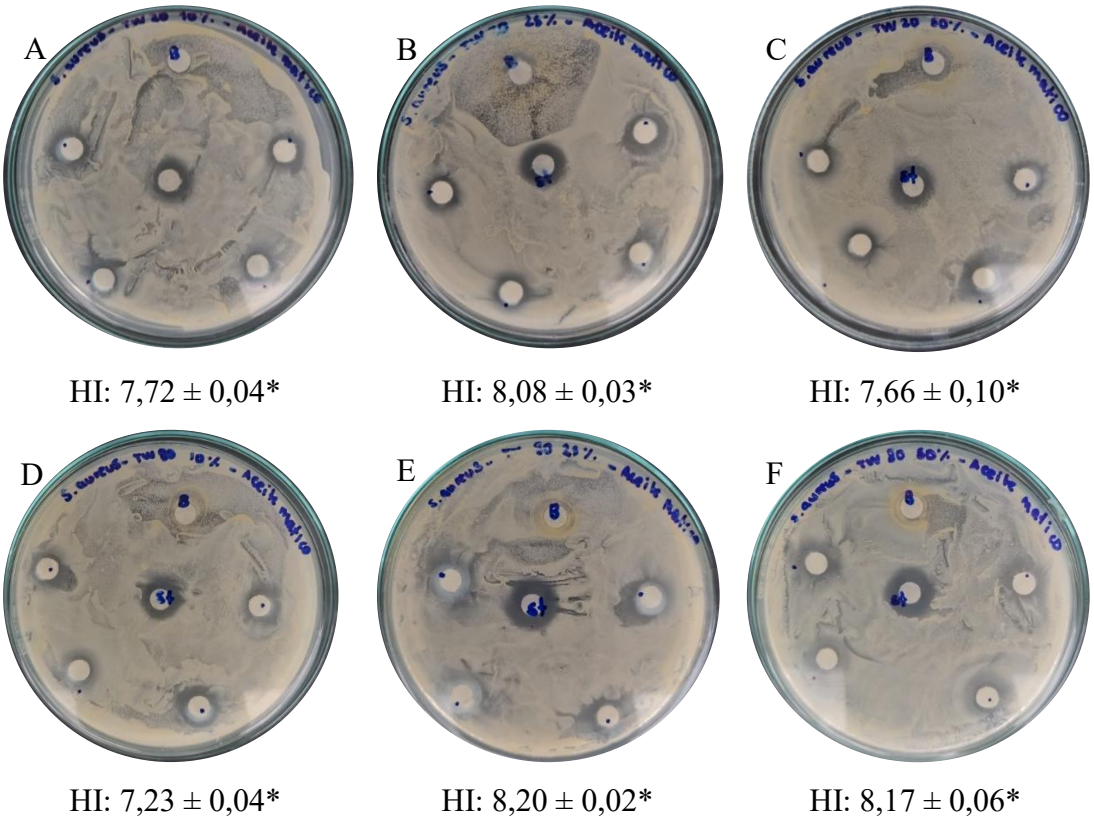
Halos de inhibición del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl frente a Staphylococcus aureus y *Bacillus subtilis*. *Ayacucho 2025.*



Nota. HI: Halos de inhibición; A y B: placas frente a *S. aureus*; C y D: placas frente a *B. subtilis;* los resultados están expresados en promedio ± error estándar de la media.

Figura 3

Halos de inhibición del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl. emulsionados con Tween 20 y 80 frente a Staphylococcus aureus. Ayacucho 2025.

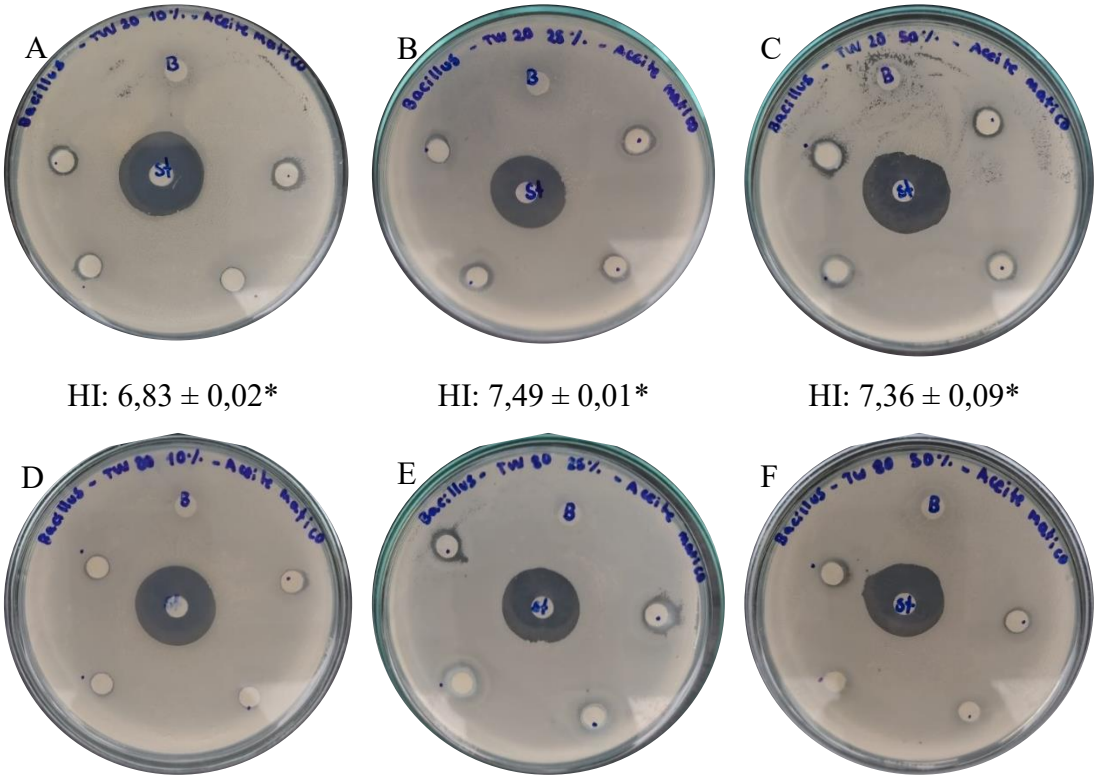


Nota. Prueba de Levene (p-valor > 0,05). *Prueba de T de Student de muestras independientes (p-valor < 0,05).

A: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 20 al 10% frente a *S. aureus*; B: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 20 al 25% frente a *S. aureus*; C: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 20 al 50% frente a *S. aureus*; D: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 80 al 10% frente a *S. aureus*; E: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 80 al 25% frente a *S. aureus* y F: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 80 al 50% frente a *S. aureus*

Figura 4

Halos de inhibición del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl emulsionados con Tween 20 y 80 frente a Bacillus subtilis. Ayacucho 2025.

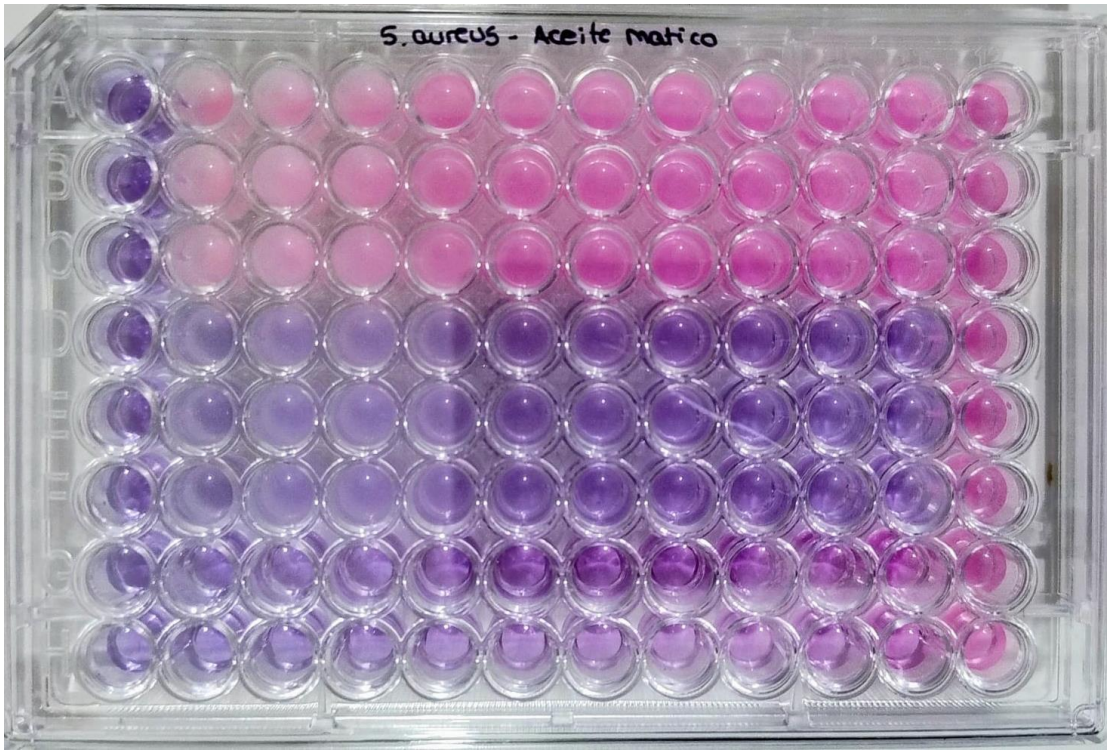


Nota. Prueba de Levene (p-valor > 0,05). *Prueba de T de Student de muestras independientes, p-valor < 0,05.

A: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 20 al 10% frente a *B. subtilis*; B: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 20 al 25% frente a *B. subtilis*; C: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 20 al 50% frente a *B. subtilis*; D: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 80 al 10% frente a *B. subtilis*; E: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 80 al 25% frente a *B. subtilis* y F: placa de aceite esencial emulsionada con Tween 80 al 50% frente a *B. subtilis.*

Figura 5

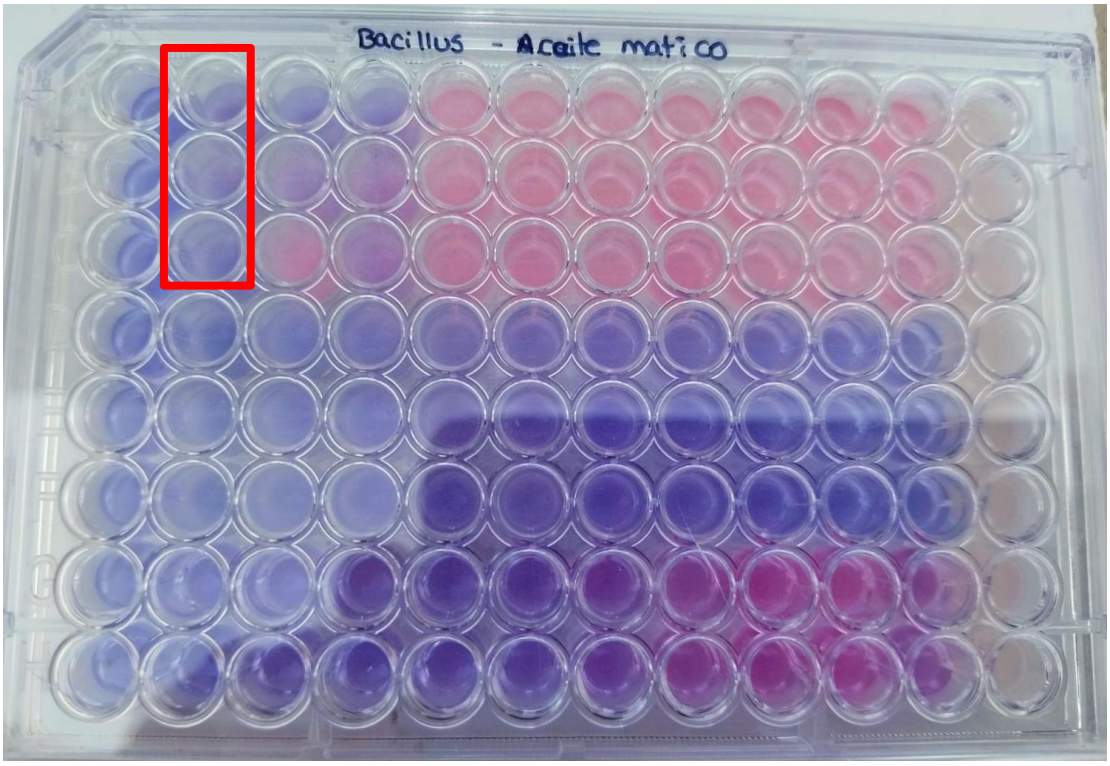
Concentración inhibitoria mínima del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl frente a Staphylococcus aureus. Ayacucho 2025.



Nota. No se detecta el CIM para el *Staphylococcus aureus*.

Figura 6

Concentración inhibitoria mínima del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl frente a Bacillus subtilis. Ayacucho 2025.



Nota. Se determina el CIM a 500 mg/ml para el *Bacillus subtilis.*

Tabla 5

Variación de las características organolépticas de la crema mucocutánea a base del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl en el estudio de pre-estabilidad. Ayacucho 2025.

Parámetro	Lectura inicial	Tiempo (días)									
		1º	2º	3º	4º	5º	6º	7º	8º	9º	10º
Aspecto	Cremoso	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Color	Blanco	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Olor	Característico	N	N	N	N	N	N	N	N	N	N

Nota. Aspecto: N-Normal (sin alteraciones); SF-Separación de fases; FG-Formación de grumos. Color/olor: N-Normal (característico); LM-Modificado (intensamente modificado). Frotis: H-Homogéneo; FG-Formación de grumos.

Tabla 6

Variación de las propiedades fisicoquímicas de la crema mucocutánea a base del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl en el estudio de pre-estabilidad. Ayacucho 2025.

Tiempo (días)	pH	Frotis	Extensibilidad (cm^2)
0°	6,816	Homogéneo	3,23
1°	6,626		
2°	6,554		
3°	6,58		
4°	6,544		
5°	6,746	H	3,47
6°	6,79		
7°	6,768		
8°	6,756		
9°	6,751		
10°	6,738	H	3,85

Nota. H: Homogéneo. Rango pH: 4 – 7 [52].

Figura 7

Variación de la extensibilidad en función del peso aplicado a la crema mucocutánea a base de aceite esencial de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.

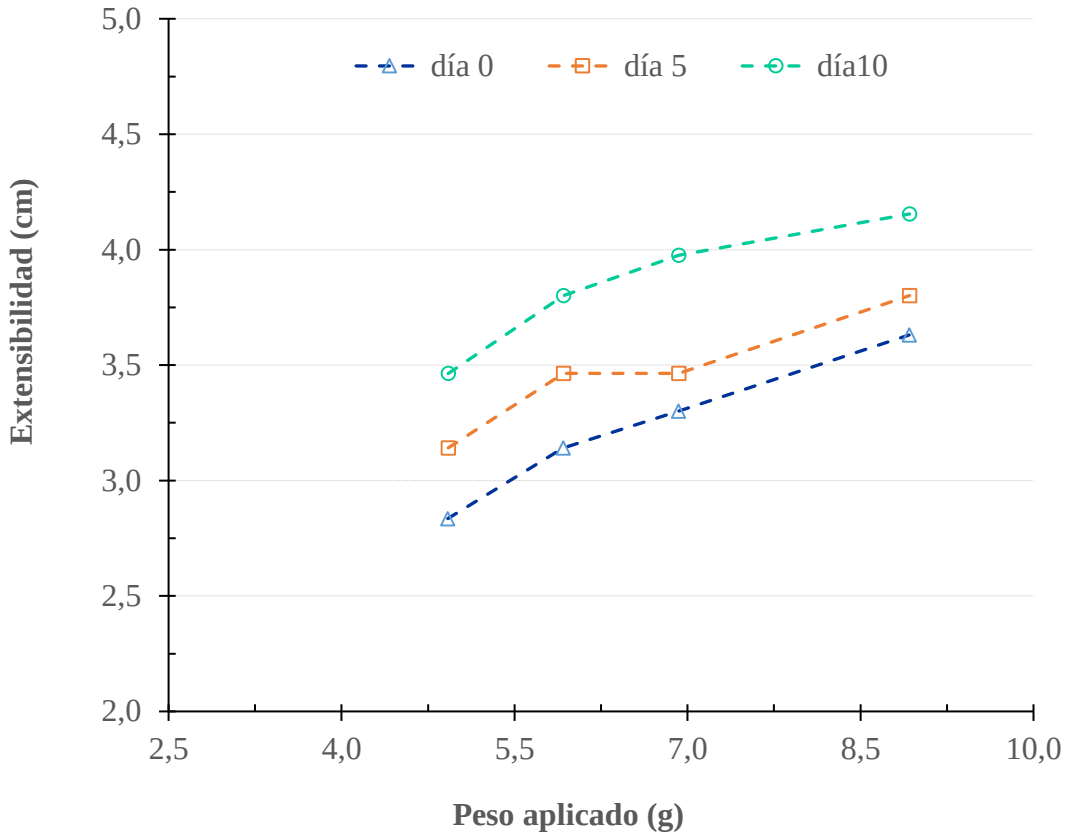


Tabla 7

Control microbiológico de la crema mucocutánea a base del aceite esencial de las hojas de Piper elongatum Vahl en el estudio de pre-estabilidad. Ayacucho 2025.

Análisis microbiológico	**Inicio**		**Final**	
	Resultados (UFC/g)	**Límite de aceptabilidad (UFC/g)**	**Resultados (UFC/g)**	**Límite de aceptabilidad (UFC/g)**
Recuento Total de Microorganismos Aerobios (RTMA)	< 10	$< 10^2$	< 10	$< 10^2$
Recuento Total Combinado de Hongos y Levaduras (RTCHL)	< 10	< 10	< 10	< 10
Pseudomona aeruginosa	Ausente	Ausencia	Ausente	Ausencia
Staphylococcus aureus	Ausente	Ausencia	Ausente	Ausencia
Escherichia coli	Ausente	Ausencia	Ausente	Ausencia

CAPÍTULO V. DISCUSIÓN

Piper elongatum Vahl. especie nativa del Perú, se destaca como una de las plantas medicinales con mayor cantidad de investigaciones, principalmente por la abundante información etnobotánica que respalda sus usos terapéuticos. Esta planta es reconocida entre las más comercializadas en los mercados del norte [53]. No obstante, a nivel nacional y aún más a nivel regional, los estudios que profundicen en su composición química, actividad antimicrobiana, formulación a base del aceite esencial de dicha especie y su respectivo estudio de estabilidad preliminar, son aún insuficientes.

Respecto a los parámetros fisicoquímicos (Tabla 3), se evidencia que la humedad de las hojas del *Piper elongatum* Vahl. recolectadas en el anexo de Chacco fue de 10,33 ± 0,17%. Este valor refleja un nivel de humedad relativamente bajo, lo que es favorable para la conservación y almacenamiento del material vegetal, dado que reduce riesgo de deterioro y proliferación microbiana.

Una investigación previa también reportó resultados similares, donde mostró un contenido de humedad del 12,90%, mientras que en el distrito de Luricocha muestra una humedad del 10,85% [23]. En comparación con estos resultados es ligera la varianza en los valores, esto puede atribuirse a diferencias en la época de recolección, condiciones climáticas específicas o variaciones en los métodos de secado aplicados.

El aceite esencial (AE) de *Piper elongatum* Vahl. fue extraído mediante destilación por arrastre de vapor, obteniéndose un rendimiento de 1,19%, valor que se encuentra dentro de lo reportado por la literatura (0,2% a 2,5%) [18,21] , lo que indica que la técnica de extracción fue adecuada. En comparación con otro estudio que evaluó el rendimiento del aceite esencial en dos localidades, Chacco y Luricocha, donde reportó valores similares entre ambas procedencias: 0,78% (7,8 ml/kg) [23] y 0,76% (7,6 ml/kg) [23], respectivamente.

Al situar este resultado en un contexto más amplio, el rendimiento obtenido en esta investigación es considerablemente mayor que los valores reportados para especies afines como *Piper angustifolium* en Brasil (0,41%) [12] y para muestras de Cuba (0,66%) [54]. Sin embargo, el rendimiento de este estudio se encuentra en un rango intermedio frente a los valores reportados por Ingaroca, *et al.* [22], para muestras de

Loreto (1,1%). Evidenciándose similitud entre ambos quimiotipos de las respectivas procedencias.

Por otro lado, existen reportes de rendimientos notablemente superiores, como en la selva central del Perú (1,87%) [21] y en la Amazonía brasileña (1,2% a 3,4%) [55]. Esto podría deberse a las diferencias en factores como condiciones ambientales de la región (suelo, clima, altitud, latitud), técnicas de extracción o características intrínsecas de las hojas recolectadas.

Respecto a otros parámetros fisicoquímicos del AE, en la Tabla 3, se observa que la densidad del AE es 1,1327 ± 0,0008 (g/ml), el pH es 5,81 ± 0,01 y el índice de refracción es de 1,5235 ± 0,0001. Al comparar estos valores con estudios previos sobre aceites esenciales de Piper spp., se observan similitudes y diferencias relevantes que aportan a la caracterización fisicoquímica del aceite en cuestión.

Diaz [21] obtuvo una densidad relativa de 1,1058 g/ml para el *Piper aduncum* Linnaeus, atribuyendo esto a su principal compuesto específico con alta densidad, como la miristicina (91,63%). Agüero [2], reporta un resultado similar obteniendo una densidad de 1,1040 g/ml para el AE de *Piper elongatum* Vahl. Por otra parte, la investigación realizada por Mauricio [23] obtuvo una densidad de 1,1203 g/ml para muestras del mismo lugar de procedencia. La densidad obtenida en el presente estudio (1,1327 g/ml) es ligeramente mayor que la reportada en otros estudios, donde se evidenció que el AE es más denso que el agua, al notar que el AE precipitó al fondo de la pera de decantación. El motivo de que la densidad del AE de *Piper elongatum* Vahl. supere a la del agua se debe a sus componentes aromáticos y volátiles, dentro de ello, atribuido al compuesto químico Apiol detectado en mayor concentración (97,24%), que a su vez presenta elevada densidad (1,124 – 1,135) [56].

En relación al índice de refracción (1,5235 ± 0,0001), al igual que la densidad relativa, es determinado por los principales constituyentes, en este caso al Apiol (97,24%) cuyo índice de refracción es 1,536 [56]. Este valor se encuentra muy cercano a los valores de referencia reportados en la literatura, lo que evidencia una alta precisión en la medición y calidad del análisis. De forma específica, el índice de refracción del AE reportada en otra investigación fue de 1,5204 ± 0,00003 [2], valor que coincide con los parámetros característicos de un AE con alta pureza y un contenido significativo de compuestos aromáticos. De manera similar otro reporte obtuvo un valor de 1,5232 ± 0,0001 [23], notándose una ligera variación no significativa. Este hallazgo es relevante, ya que el índice de refracción es un parámetro físico fundamental que permite evaluar

la consistencia y autenticidad del AE, asegurando que el producto no presente impurezas ni adulteraciones que puedan afectar sus propiedades funcionales.

Los resultados de la Tabla 4 y la Figura 1 están relacionados con el perfil químico del AE de *Piper elongatum* Vahl. Donde se revela una marcada predominancia del compuesto Apiol (97,24%), acompañado por cantidades menores de compuestos como el tridecano (1,70%), el cariofileno (0,44%) y otros compuestos que añaden diversidad y potencial uso en aplicaciones medicinales. Estos resultados coinciden con lo reportado por Agüero [2], en su investigación obtuvo elevada concentración de Apiol (97,9%), seguido de compuestos como hexadecano (1,4%) y cariofileno (0,6%). Resultados similares obtuvo Mauricio [23] donde también se evidenció como componente principal al apiol (96,15%) y hexadecano (3,85%).

Este quimiotipo específico de *Piper elongatum* Vahl. se diferencia de otros quimiotipos del género Piper, en los cuales predominan terpenos como el dillapiole, miristicina, (E)-nerolidol o linalol [11,17]. Según Potzernheim [57] los diferentes quimiotipos presente en una misma especie pueden estar influenciados por factores como características del sitio, estrés hídrico, tipo de suelo y nutrientes disponibles en el suelo, condiciones altitudinales y ambientales, lo que da lugar a distintos perfiles químicos.

En este estudio también se evaluó la actividad antimicrobiana (Figura 2), donde se observó un halo de inhibición contra *Staphylococcus aureus* de 7,43 ± 0,08 mm y contra *Bacillus subtilis* de 7,19 ± 0,03 mm. Así mismo en la Figura 5 y Figura 6 se determinó la concentración inhibitoria mínima (CIM) donde se obtuvo como resultados un CIM de 500 mg/ml para *Bacillus subtilis* y para *Staphylococcus aureus* no se logró determinar. Estos resultados sugieren una actividad antimicrobiana baja en comparación con otros estudios sobre AE del género Piper, especialmente el *Piper aduncum,* que suele presentar CIMs mucho menores (250 a 500 µg/ml) contra *Staphylococcus aureus* y mejor actividad antimicrobiana, atribuidos a la presencia significativa de dillapiole y su sinergia con miristicina [4,11,17].

Mendoza [9] demostró el efecto antibacteriano del AE de *Piper aduncum* a diferentes concentraciones (25%, 50%, 75% y 100%), donde notó actividad a partir de la dilución del 75%. Al 100% comparado con Oxacilina 1 µg sobre *Staphylococcus aureus* obtuvo un halo de inhibición de 16,5 mm. Este estudio concluyó que el AE de *Piper aduncum* efectivamente tiene efecto antibacteriano sobre esta cepa.

La alta concentración de apiol en el AE de *Piper elongatum* Vahl. puede explicar la modesta actividad antimicrobiana observada, ya que este compuesto tiene reconocidas propiedades farmacológicas, pero generalmente es menos potente como agente antibacteriano en comparación con otros fenilpropanoides como el dillapiole. La actividad antimicrobiana de *Piper aduncum* ha sido mayormente atribuida a la combinación sinérgica de dillapiole y miristicina, compuestos presentes en proporciones variables según el origen geográfico de la muestra, lo que resalta la importancia del quimiotipo y la composición química para la eficacia antimicrobiana [11,17].

Asimismo, la CIM elevada (500 mg/ml) para *Bacillus subtilis* y para *Staphylococcus aureus* la cual no fue determinada, indican que el AE estudiado requiere concentraciones altas para inhibir el crecimiento bacteriano, limitando su aplicación directa como antimicrobiano sin procesamientos adicionales o formulaciones que mejoren su eficacia. Esto es congruente con la literatura que reporta actividades antimicrobianas más robustas para aceites con mayor diversidad y concentración de fenilpropanoides como dillapiole, así como terpenos y flavonoides, que pueden actuar en sinergia para potenciar el efecto antibacteriano [22,58].

Los principales compuestos bioactivos identificados en el AE de *Piper elongatum* Vahl., como el apiol, el cariofileno y el hexadecano, poseen diferentes mecanismos de acción que pueden contribuir a su actividad biológica. El apiol, que constituye la mayor parte del AE, es un fenilpropanoide con actividad antiinflamatoria, analgésica y antimicrobiana leve. Su mecanismo antimicrobiano se asocia a la alteración de la permeabilidad y funcionalidad de la membrana celular bacteriana, causando la pérdida de iones esenciales y la interrupción del metabolismo bacteriano. Sin embargo, su potencia como antibacteriano puro es limitada, lo que explica la necesidad de concentraciones altas para observar inhibición significativa, como se evidencia en el presente estudio y otros similares. Por otra parte, el cariofileno es un sesquiterpeno reconocido por su capacidad para interactuar con receptores celulares en humanos y microorganismos. Su efecto antimicrobiano puede estar relacionado con la inducción de estrés oxidativo en las bacterias y la inhibición de enzimas clave. Además, el cariofileno ha mostrado efectos antiinflamatorios y analgésicos que pueden complementar la actividad terapéutica del AE [11].

El AE también contiene trazas de otros compuestos terpenoides que, aunque en baja concentración, pueden ejercer efectos sinérgicos al combinarse con el apiol y cariofileno, mejorando su espectro antimicrobiano.

En otros estudios se ha observado a su vez la actividad antioxidante moderada, atribuida principalmente a la capacidad de estos compuestos para neutralizar radicales libres, protegiendo las células de daños oxidativos que están relacionados con inflamación crónica y varias enfermedades degenerativas [22]. Este efecto antioxidante puede complementar la actividad antiinflamatoria y antimicrobiana, haciendo del AE un candidato potencial para aplicaciones tópica en heridas, úlceras y enfermedades de la piel. En base a esta premisa, el presente estudio pretendió incorporar el AE en una crema mucocutánea estable.

Por ello, antes de realizar la formulación se hizo pruebas de difusión y con ello determinar la influencia de polisorbatos en la actividad antibacteriana del AE de *Piper elongatum* Vahl. En la Figura 3 y Figura 4, se observa la evaluación del efecto de los tensioactivos polisorbatos 20 (Tween 20) y polisorbato 80 (Tween 80) en diferentes concentraciones (10%, 25% y 50%) sobre la actividad antibacteriana contra *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.* Los resultados mostraron que la incorporación de ambos polisorbatos en concentraciones medias (25%) aumentaron el halo de inhibición para *Staphylococcus aureus* (Tween 20: 8,08 ± 0,03; Tween 80: 8,20 ± 0,02 mm) y para *Bacillus subtilis* (Tween 20: 7,49 ± 0,01; Tween 80: 7,84 ± 0,02 mm), en comparación con las concentraciones menores y mayores. Este efecto sugiere que la presencia de estos tensioactivos puede facilitar la dispersión del AE en el medio, mejorando su bioactividad antimicrobiana, especialmente a concentraciones intermedias.

Este comportamiento es consistente con estudios previos donde el uso de polisorbatos ha sido reportado para mejorar la solubilidad y estabilidad de AE, favoreciendo su acción antimicrobiana. Por ejemplo, en investigaciones con AE de *Piper aduncum*, el uso de Tween 80 ha mostrado mejorar la actividad bactericida debido a una mejor emulsificación y mayor contacto con la membrana bacteriana, incrementando la permeabilidad y el efecto tóxico sobre las células microbianas [17,22].

Además, la diferencia sutil pero constante en favor de Tween 80 sobre Tween 20 podría atribuirse a su estructura química y propiedades emulsificantes superiores, facilitando una mejor integración del AE en formulaciones, lo cual se ha documentado

en la literatura farmacéutica para formulaciones tópicas antimicrobianas [58]. El Tween 80 posee un mayor grado de oleosidad, lo que podría favorecer la solubilización de compuestos lipofílicos presentes en el AE, como el apiol y el cariofileno.

No obstante, en concentraciones altas (50%), el efecto no mostró un aumento significativo en la actividad antimicrobiana, e incluso se observó una leve disminución o estancamiento en el tamaño de los halos de inhibición, lo que podría explicar un fenómeno de saturación. Esto coincide con reportes donde concentraciones excesivas de tensioactivos pueden formar micelas que encapsulan los compuestos activos, limitando su disponibilidad para actuar sobre los microorganismos [11].

Estos hallazgos apoyan la elección del Tween 80 al 25% como agente emulsificante óptimo para el desarrollo de una crema mucocutánea formulada con AE de *Piper elongatum* Vahl., maximizando la actividad antibacteriana y estabilidad de la formulación.

En la presente investigación se desarrolló una crema mucocutánea formulada a base de AE de *Piper elongatum* Vahl., con el objetivo de aprovechar su perfil químico y actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.* La evaluación preliminar de estabilidad realizada durante 10 días a ciclos extremos de temperatura, conforme a la guía de estabilidad de productos cosméticos de ANVISA, mostró resultados alentadores en cuanto a la estabilidad microbiológica, organoléptica y fisicoquímica del producto.

En cuanto a las características organolépticas (Tabla 5), la crema mantuvo un aspecto cremoso, color blanco y olor característico a lo largo del periodo de evaluación, sin cambios significativos. La conservación de estas propiedades sensoriales es fundamental para la aceptación del producto por parte del usuario final.

Respecto a las propiedades fisicoquímicas (Tabla 6), el pH de la crema osciló entre 6,5 y 6,8 durante los 10 días, con ligeras variaciones, pero sin desviarse significativamente del rango fisiológico compatible con la piel humana. Mantener el pH cercano a la piel es crucial para evitar irritaciones y preservar la barrera cutánea. Además, la homogeneidad y extensibilidad del producto presentaron una ligera mejora, evidenciada en la estabilidad del frotis y un aumento progresivo en la extensibilidad (de 3,23 cm a 3,85 cm), lo cual indica una buena interacción entre el aceite esencial y la matriz emulsionante, favoreciendo la aplicabilidad y absorción en la piel (Figura 7).

Los análisis microbiológicos indicaron ausencia de microorganismos contaminantes (Tabla 7) manteniendo los niveles dentro de los límites aceptables

establecidos para cosméticos. Esta asepsia prolongada indica que la formulación preserva adecuadamente la integridad microbiológica del producto durante las condiciones de estrés térmico evaluadas.

Cabe resaltar que el uso de ciclos térmicos extremos para la evaluación acelerada de la estabilidad, en una práctica estándar recomendada para prever el comportamiento del producto en su producción a pequeña escala, y los resultados obtenidos en esta etapa preliminar son prometedores para el desarrollo posterior de estudios de estabilidad a largo plazo. Este tipo de ensayos son relevantes para soluciones, emulsiones y suspensiones y en general para productos cosméticos [45].

ANVISA [10] sugiere realizar estos análisis puesto que son útiles para desafiar el producto y obtener una evidencia del posible deterioro o alteración del mismo. Las conclusiones obtenidas permiten tomar decisiones sobre la elección de ingredientes en la formulación, ajuste en las condiciones de operación, temperatura de emulsificación, calentamiento, entre otros. Se precisa que estos estudios únicamente miden la susceptibilidad del producto al deterioro, y no se recomienda para predecir el tiempo de vida útil. Para ello es apropiado realizar estudios de estabilidad natural durante la etapa de comercialización, en lotes de tamaño industrial.

Lo resultados obtenidos en esta investigación aportan evidencia sólida sobre la viabilidad de formular cremas mucocutáneas a base de AE de *Piper elongatum* Vahl., con propiedades antimicrobianas demostradas y una buena estabilidad bajo condiciones adversas. La preservación y estabilidad fisicoquímica, organoléptica y microbiológica, son fundamentales para asegurar la eficacia y seguridad del producto cosmético, aspectos que fueron confirmados en el presente estudio.

No obstante, la literatura científica sobre formulaciones cosméticas con aceites esenciales de especies del género Piper, y particularmente de *Piper elongatum* Vahl., es limitada y fragmentada. Este vacío se debe, en parte, a la baja popularidad de estos aceites en formulaciones comerciales modernas, a diferencia de otros aceites esenciales más difundidas como lavanda o árbol de té. Además, la mayoría de estudios realizan una investigación básica, es decir, se centran en las propiedades farmacológicas y químicas de extractos o aceites puros, dejando de lado investigaciones aplicadas que aborden la formulación, estabilidad y aceptación de productos terminados. Por ello, esta investigación contribuye a llenar un vacío importante, proporcionando datos preliminares que sustentan el desarrollo y futura comercialización de cosméticos a base

de aceites esenciales de Piper, promoviendo su potencial como alternativa natural y segura para el cuidado cutáneo.

En conclusión, la formulación de una crema mucocutánea a base del AE de *Piper elongatum* Vahl., usando polisorbato 80 como agente emulsificante, no solo ha logrado conservar las propiedades organolépticas y microbiológicas, sino que también ha mantenido la estabilidad fisicoquímica necesaria para aplicaciones tópicas seguras y efectivas. Este resultado abre camino para el desarrollo de productos naturales con potencial terapéutico antimicrobiano, apoyados en la riqueza química del género Piper y en prácticas farmacéuticas rigurosas.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

- Se determinó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis,* y se logró su incorporación en una crema mucocutánea cuya estabilidad fisicoquímica y microbiológica fue evaluada satisfactoriamente.
- El diámetro del halo de inhibición producido por el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. es leve, obteniéndose valores indicativos de actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (7,43 ± 0,08 mm) y *Bacillus subtilis* (7,19 ± 0,03 mm)*,* mediante la técnica de difusión en agar.
- El diámetro del halo de inhibición producido por emulsiones del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. con Tween 20 y 80 a concentraciones del 10%, 25% y 50%, demostró una mayor actividad antimicrobiana a una concentración del 25% de Tween 80. En particular, se observó un halo de inhibición de 8,20 ±0,02 mm frente a *Staphylococcus aureus* y de 7,84±0,02mm frente *Bacillus subtilis*.
- La concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. es de 500 mg/ml para *Bacillus subtilis*, mientras que para *Staphylococcus aureus* no se logró determinar, lo que indica mayor resistencia o necesidad de concentraciones más altas para inhibición significativa.
- La estabilidad físico-química de la formulación de la crema mucocutánea con aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. demostró un pH estable, mantenimiento de homogeneidad y extensibilidad adecuadas, así como la conservación de características organolépticas sin alteraciones perceptibles durante un periodo de 10 días bajo condiciones alternas de temperatura.
- Los límites microbiológicos de la crema a base de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. cumplen con los estándares microbiológicos al inicio y al final del estudio de pre estabilidad.

CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES

- Considerar la variabilidad del quimiotipo en futuros estudios y evaluar combinaciones de compuestos aislados para optimizar la actividad antimicrobiana y terapéutica.
- Realizar estudios de estabilidad a largo plazo, extendidos a 6 meses o un año, para confirmar la conservación microbiológica, fisicoquímica y sensorial de la crema bajo condiciones reales de almacenamiento.
- Investigar formulaciones combinadas que incluyan otros aceites esenciales o compuestos aislados con actividad sinérgica, como ocurre con la combinación de dillapiole y miristicina en *Piper aduncum*.
- Llevar a cabo ensayos toxicológicos y clínicos para evaluar la eficacia terapéutica y seguridad dermatológica de la crema en paciente con infecciones mucocutáneas causadas por *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.*
- Considerar la evaluación del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl y la formulación frente a una gama más amplia de microorganismos patógenos, incluyendo gram negativas y hongos, para amplificar el potencial terapéutico del producto.

BIBLIOGRAFÍA

1. Giono-Cerezo S, Santos-Preciado JI, Rayo Morfín-Otero M del, Torres-López FJ, Alcántar-Curiel MD, Giono-Cerezo S, et al. Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. Gaceta médica de México. abril de 2020;156(2):172-80.

2. Agüero L. Caracterización física y química del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. de la provincia de Huamanga. 2024 [citado 18 de noviembre de 2024]; Disponible en: https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/20.500.14612/7114

3. Peralta-Canchis LP, Kroning IS, Zandoná GP, Kleinübing NR, Oliveira TL, Fiorentini ÂM, et al. Composición química de los aceites esenciales *de Minthostachys setosa* (Briquet) y *Piper elongatum* (Vahl), actividad antiestafilocócica y efecto sobre la eliminación de biopelículas *de Staphylococcus aureus*. Biocatalysis and Agricultural Biotechnology, Brasil. 1 de junio de 2024;58:103170.

4. Díaz Cieza C. Actividad Antibacteriana "*in vitro*" del Aceite Esencial de Matico (*Piper aduncum*) sobre *Staphylococcus aureus*. Universidad Nacional de Jaén Cajamarca [Internet]. 14 de junio de 2019 [citado 18 de noviembre de 2024]; Disponible en: http://repositorio.unj.edu.pe/jspui/handle/UNJ/308

5. Sanabria Galindo A, Mendoza Ruiz A, Moreno AL. Actividad antimicrobiana in vitro de Angiospermas colombianas. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas. 1 de enero de 1998;27(1):47-51.

6. Mutlu-Ingok A, Devecioglu D, Dikmetas DN, Karbancioglu-Guler F, Capanoglu E. Antibacterial, Antifungal, Antimycotoxigenic, and Antioxidant Activities of Essential Oils: An Updated Review. Molecules. 14 de octubre de 2020;25(20):4711.

7. Tabassum A, Akram S, Mushtaq M. Chapter 11 - Apiole. En: Mushtaq M, Anwar F, editores. A Centum of Valuable Plant Bioactives [Internet]. Academic Press; 2021 [citado 18 de noviembre de 2024]. p. 233-59. Disponible en: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128229231000200

8. Ray P, Singh S, Gupta S. Topical antimicrobial therapy: Current status and challenges. Indian J Med Microbiol. 2019;37(3):299-308.

9. Mendoza Rodríguez MDP. Efecto antibacteriano del aceite esencial de *Piper aduncum* "matico" sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 comparado con oxacilina, estudio *in vitro*. 2019.

10. Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria. Guía de estabilidad de productos cosméticos. [Internet]. 1.ª ed. Vol. 1. Brasil: ANVISA; 2005. 52 p. Disponible en: https://antigo.anvisa.gov.br/documents/106351/107910/Gu%C3%ADa+de+Estabilidad+de+Productos+Cosm%C3%A9ticos/dd40ebf0-b9a2-4316-a6b4-818cac57f6de

11. Lock O, Rojas R. Química y Farmacología del *Piper aduncum* L. («Matico»). Revista de Química. 2004;32.

12. Bosquiroli L, Demarque D, Rizk Y, Cunha M, S. Marques M, Cepa Matos M de F, et al. *In vitro* anti-Leishmania infantum activity of essential oil from *Piper angustifolium*. Revista Brasileira de Farmacognosia. 31 de marzo de 2015;9.

13. Tapuy A. Elaboración de una crema con actividad cicatrizante a base de extracto hidroalcohólico de hojas de *Piper aduncum* L. [Riobamba, Ecuador]: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2023.

14. Bedón Ponluisa KA, León Coque NI. Extracción del aceite esencial de matico (*Piper aduncum*), mediante el método de arrastre de vapor. agosto de 2022 [citado 21 de noviembre de 2024]; Disponible en: http://repositorio.utc.edu.ec/handle/27000/9349

15. Da Silva ACA, Matias EFF, Rocha JE, Araújo ACJ de, de Freitas TS, Campina FF, et al. Gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) characterization and evaluation of antibacterial bioactivities of the essential oils from *Piper arboreum* Aubl., *Piper aduncum* L. e *Piper gaudichaudianum* Kunth. Z Naturforsch C J Biosci. 27 de enero de 2021;76(1-2):35-42.

16. Mamood SNH, Hidayatulfathi O, Budin SB, Ahmad Rohi G, Zulfakar MH. The formulation of the essential oil of *Piper aduncum* Linnaeus (Piperales: Piperaceae)

increases its efficacy as an insect repellent. Bull Entomol Res. febrero de 2017;107(1):49-57.

17. Brazão MAB, Brazão FV, Maia JGS, Monteiro MC. Antibacterial activity of the *Piper aduncum* oil and dillapiole, Its main constituent, Against multidrug-resistant strains. Boletin Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromaticas. 2014;13(6):517-26.

18. Tirillini B, Velasquez ER, Pellegrino R. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. Planta Med. agosto de 1996;62(4):372-3.

19. Rabanal Hurtado DL, Salcedo Chavez JC. Actividad antioxidante y fotoprotectora *in vitro* de una cremagel elaborada a base del extracto metanólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. var. salviaefolium (Miq.) Trel. (matico). 2020; Disponible en: https://research.ebsco.com/linkprocessor/plink?id=e3c91511-d6d7-31e9-85f2-30c6257af39a

20. Mendoza WEA, Jacinto RF, Jara CIA, Saavedra EFC. Desarrollo de una crema de hojas de *Piper aduncum* L. (piperaceae) con actividad fotoprotectora *in vitro*. ARNALDOA UNT. 23 de marzo de 2018;25(1):115-26.

21. Diaz Calderón R. Aceites esenciales con potencial económico en tres especies del género Piper procedentes de la Selva Central del Perú. 2018; Disponible en: https://hdl.handle.net/20.500.12996/3659

22. Ingaroca S, Castro A, Ramos N. Composición química y ensayos de actividad antioxidante y del efecto fungistático sobre *Candida albicans* del aceite esencial de *Piper aduncum* L. «Matico». Revista de la Sociedad Química del Perú. abril de 2019;85(2):268-79.

23. Mauricio Rojas M. Variabilidad del contenido del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. que crecen en la región de Ayacucho. 2024 [citado 15 de mayo de 2025]; Disponible en: https://repositorio.unsch.edu.pe/handle/20.500.14612/7215

24. Martínez F. Formulación de jabón a base de extracto hidroalcohólico de las hojas de *Piper elongatum* Vahl. «matico». Ayacucho 2016. [Internet] [Experimental]. [Ayacucho, Perú]: Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga; 2016. Disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/2329

25. Durofil A, Radice M, Blanco-Salas J, Ruiz-Téllez T. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. A review. Parasite. 3 de mayo de 2021;28:42.

26. Instituto Nacional de Salud. Centro Nacional de Salud Intercultural (CENSI). National Center for Intercultural Health (CENSI) [Internet]. septiembre de 2006 [citado 5 de noviembre de 2024]; Disponible en: https://repositorio.ins.gob.pe///handle/20.500.14196/685

27. Santillán GA, Quintana SGC. Actividad antioxidante y polifenoles de extractos de Piper sp. «matico» recolectados en el distrito de Levanto, Amazonas. Revista Científica Dékamu Agropec. 8 de diciembre de 2020;1(2):16-25.

28. Valadeau C, Pabon A, Deharo E, Albán-Castillo J, Estevez Y, Lores FA, et al. Medicinal plants from the Yanesha (Peru): evaluation of the leishmanicidal and antimalarial activity of selected extracts. J Ethnopharmacol. 25 de junio de 2009;123(3):413-22.

29. Alonso-Castro AJ, Villarreal ML, Salazar-Olivo LA, Gomez-Sanchez M, Dominguez F, Garcia-Carranca A. Mexican medicinal plants used for cancer treatment: pharmacological, phytochemical and ethnobotanical studies. J Ethnopharmacol. 16 de febrero de 2011;133(3):945-72.

30. Chahal J, Ohlyan R, Kandale A, Walia A, Puri S. Introduction, phytochemistry, traditional uses and biological activity of genus Piper: a review [Internet]. 2011 [citado 4 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://espace.library.uq.edu.au/view/UQ:341d556

31. Setzer WN, Setzer MC, Bates RB, Nakkiew P, Jackes BR, Chen L, et al. Antibacterial hydroxycinnamic esters from *Piper caninum* from Paluma, north

Queensland, Australia. The crystal and molecular structure of (+)-bornyl coumarate. Planta Med. diciembre de 1999;65(8):747-9.

32. Durant-Archibold AA, Santana AI, Gupta MP. Usos etnomédicos y actividades farmacológicas de las especies más prevalentes del género *Piper* en Panamá: una revisión. Journal of Ethnopharmacology. 10 de mayo de 2018;217:63-82.

33. Gupta VK, Tuohy MG, O'Donovan A, Lohani M. Biotechnology of Bioactive Compounds: Sources and Applications. John Wiley & Sons; 2015. 742 p.

34. De Almeida RRP, Souto RNP, Bastos CN, da Silva MHL, Maia JGS. Chemical variation in *Piper aduncum* and biological properties of its dillapiole-rich essential oil. Chem Biodivers. septiembre de 2009;6(9):1427-34.

35. Morandin A, Kato M, Cavalheiro A, Furlan M. (PDF) Intraspecific variability of dihydrochalcone, chromenes and benzoic acid derivatives in leaves of *Piper aduncum* L.(Piperaceae) [Internet]. [citado 15 de mayo de 2025]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/228355192_Intraspecific_variability_of_dihydrochalcone_chromenes_and_benzoic_acid_derivatives_in_leaves_of_Piper_aduncum_LPiperaceae

36. Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. Biological effects of essential oils – A review. Food and Chemical Toxicology. 1 de febrero de 2008;46(2):446-75.

37. Barotto AJ. Extracción verde de aceites esenciales. Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales, Universidad Nacional de la Plata. 2021;8(2):36-41.

38. Baser KHC. Manual de aceites esenciales: Ciencia, tecnología y aplicaciones. 3era Edición. 2020. 1120 p.

39. Servicio Nacional de Aprendizaje. Introdución a la industria de aceites esenciales de plantas medicinales y aromáticas [Internet]. SENA; Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/sitios/introduccion_industria_aceites_esenciales_plantas_medicinales_aromaticas/pdf/ACEITES%20ESENCIALES%20EXTRAIDOS%20DE%20PLANTAS%20MEDICINALES%20Y%20AROMATICAS.pdf

40. Ramirez LS, Castaño DM. Metodologías para evaluar *in vitro* la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. Scientia Et Technica. 2009;XV(42):263-8.

41. Books O, Rivas-Morales C, Oranday-Cárdenas MA, Verde-Star MJ, García-González S, Leos-Rivas C, et al. Investigación en plantas de importancia médica. OmniaScience Monographs [Internet]. [citado 16 de mayo de 2025]; Disponible en: https://www.omniascience.com/books/index.php/monographs/catalog/view/97/409/812-1

42. Nadinic JL, Bandoni AL, Martino VS, Ferraro GE. Fitocosmética: Fitoingredientes y otros productos naturales. EUDEBA; 2016. 285 p.

43. Ahmed IA, Mikail MA, Zamakshshari NH, Mustafa MR, Hashim NM, Othman R. Trends and challenges in phytotherapy and phytocosmetics for skin aging. Saudi Journal of Biological Sciences. 1 de agosto de 2022;29(8):103363.

44. Costa R, Santos L. Delivery systems for cosmetics - From manufacturing to the skin of natural antioxidants. Powder Technology. diciembre de 2017;322:402-16.

45. Díaz J, Mier H. Recomendaciones para el desarrollo de estudios de estabilidad de productos cosméticos [Internet]. Vol. 1. Colombia: ONUDI; 2018. 90 p. Disponible en: https://www.unido.org/sites/default/files/files/2019-02/ONUDI_Gu%C3%ADa%20de%20Estabilidad_FINAL%20(003).pdf

46. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1 de julio de 2001;48(suppl_1):5-16.

47. Resolución Ministerial N.° 197-2021-MINSA [Internet]. [citado 9 de junio de 2025]. Disponible en: https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/1677826-197-2021-minsa

48. Muñoz A. Resolución de dirección ejecutiva N° 136-2016-SERFOR-DE 589721 Normas legales [Internet]. El Perú Legal. [citado 9 de junio de 2025]. Disponible en: https://www.elperulegal.com/2016/06/resolucion-de-direccion-ejecutiva-n-136.html

49. Hernández Sampieri R, Fernández Collado C, Baptista Lucio P. Metodología de la investigación [Internet]. McGraw Hill España; 2014 [citado 2 de noviembre de 2024]. Disponible en: https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=775008

50. Press Release - European Pharmacopeia 10th Edition continuous updates to address new challenges - September 2019 [Internet]. European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare. [citado 3 de junio de 2025]. Disponible en: https://www.edqm.eu/en/d/85150

51. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. Clin Infect Dis. 1 de diciembre de 2009;49(11):1749-55.

52. Cristóbal. El pH de la piel y de los cosméticos [Internet]. Instituto de Dermocosmética. 2018 [citado 4 de junio de 2025]. Disponible en: https://www.institutodermocosmetica.com/el-ph-de-la-piel-y-de-los-cosmeticos/

53. Bussmann RW, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonía - La flora mágica y medicinal del Norte del Perú. Ethnobotany Research and Applications. 2016;15:1-293.

54. Abreu O, Pino JA. Leaf Oil Composition of *Piper aduncum* subsp. *ossanum* (C. CD.) Saralegui from Cuba. Natural Product Communications. febrero de 2008;3(2):1934578X0800300234.

55. Maia JA. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing wild in the Amazon region. Flavour and Fragrance Journal [Internet]. 1 de enero de 1998 [citado 30 de octubre de 2024]; Disponible en: https://www.academia.edu/29083444/Constituents_of_the_essential_oil_ofPiper_aduncum_L_growing_wild_in_the_Amazon_region

56. PubChem. Apiole (parsley) [Internet]. [citado 22 de mayo de 2025]. Disponible en: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10659

57. Potzernheim M. Chemical characterization of essential oil constituents of four populations of *Piper aduncum* L. from Distrito Federal, Brazil. Biochemical Systematics and Ecology [Internet]. 1 de enero de 2012 [citado 24 de mayo de

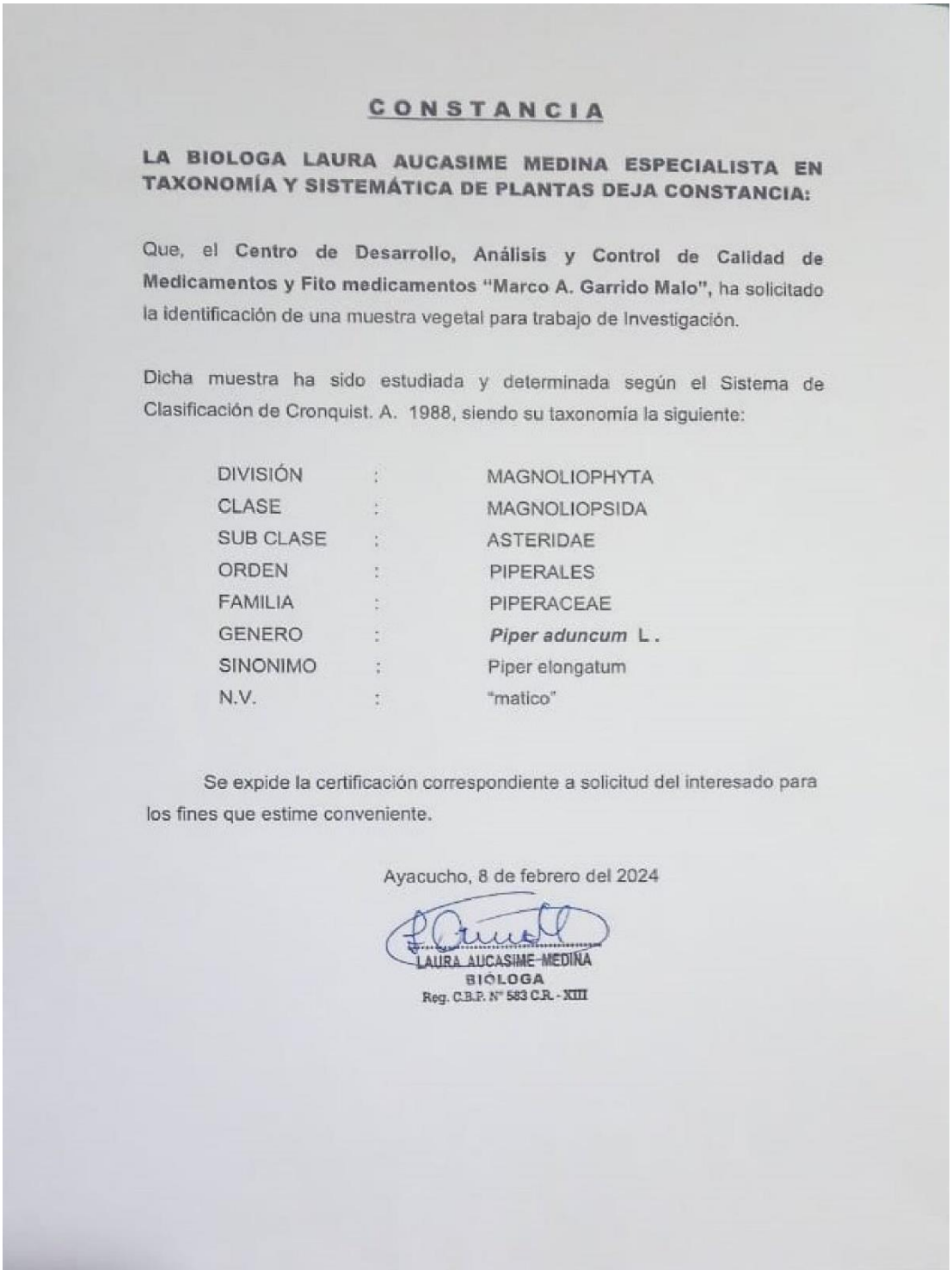
2025]; Disponible en: https://www.academia.edu/54396682/Chemical_characterization_of_essential_oil_constituents_of_four_populations_of_*Piper_aduncum*_L_from_Distrito_Federal_Brazil

58. Areche FO, Huaman JT, Rodríguez AR, Flores DDC. *Piper aduncum* L. (matico) utilizado como tratamiento para el daño pulmonar y Covid-19. Revista Vive. 14 de diciembre de 2021;4(12):534-49.

ANEXOS

Anexo 1

Identificación taxonómica de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.



CONSTANCIA

LA BIOLOGA LAURA AUCASIME MEDINA ESPECIALISTA EN TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA DE PLANTAS DEJA CONSTANCIA:

Que, el **Centro de Desarrollo, Análisis y Control de Calidad de Medicamentos y Fito medicamentos "Marco A. Garrido Malo"**, ha solicitado la identificación de una muestra vegetal para trabajo de Investigación.

Dicha muestra ha sido estudiada y determinada según el Sistema de Clasificación de Cronquist. A. 1988, siendo su taxonomía la siguiente:

DIVISIÓN	:	MAGNOLIOPHYTA
CLASE	:	MAGNOLIOPSIDA
SUB CLASE	:	ASTERIDAE
ORDEN	:	PIPERALES
FAMILIA	:	PIPERACEAE
GENERO	:	***Piper aduncum*** **L.**
SINONIMO	:	Piper elongatum
N.V.	:	"matico"

Se expide la certificación correspondiente a solicitud del interesado para los fines que estime conveniente.

Ayacucho, 8 de febrero del 2024

LAURA AUCASIME MEDINA
BIÓLOGA
Reg. C.B.P. N° 583 C.R. - XIII

Nota. Constancia remitida por la especialista en taxonomía y sistemática de plantas.

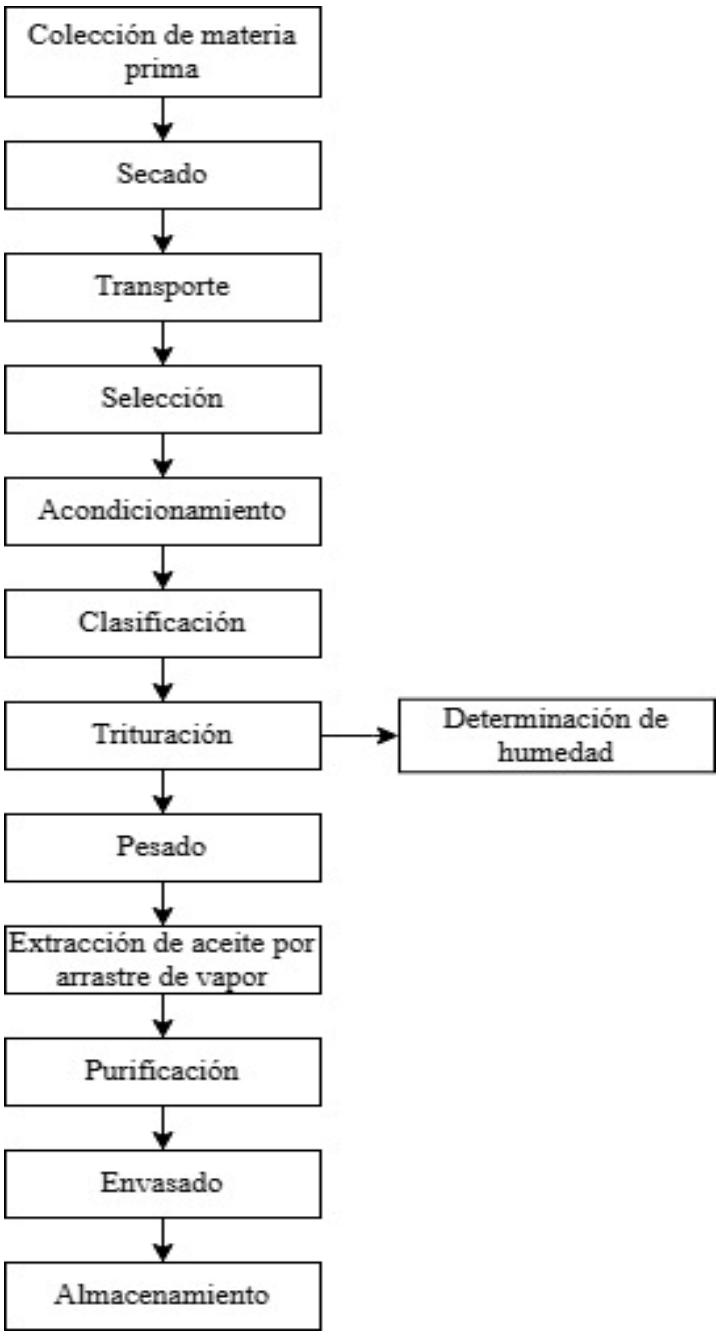
Anexo 2

Localización geográfica del lugar de recolección del Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.

Nota. Ubicación geográfica: Anexo Chacco, distrito de Quinua, provincia Huamanga – Ayacucho.

Anexo 3

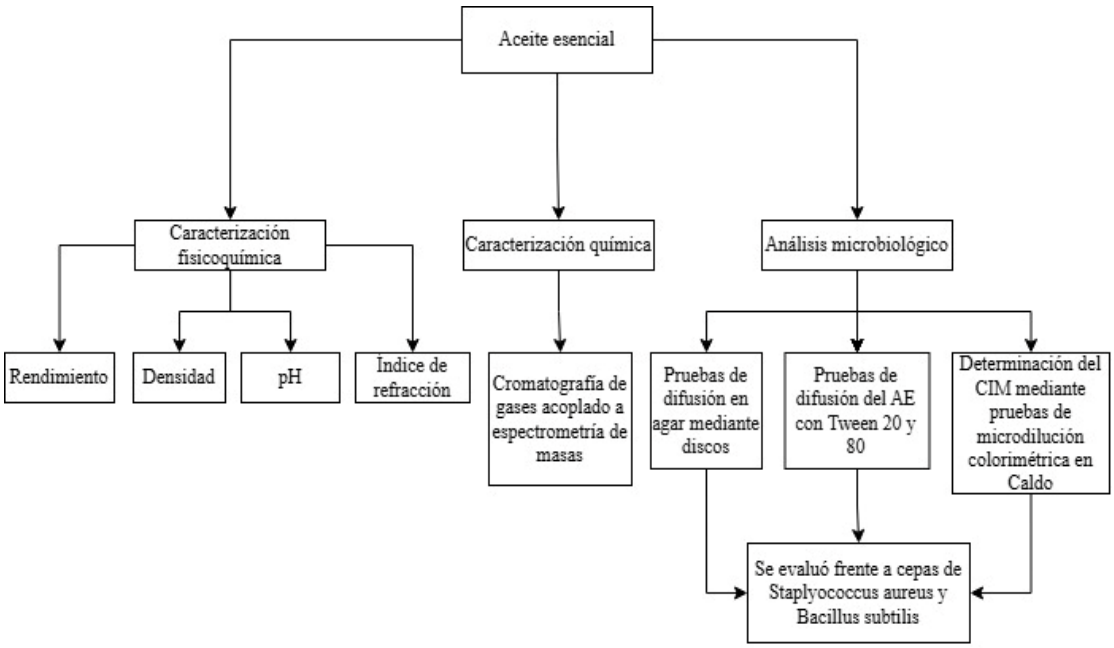
Flujograma del diseño metodológico para la preparación de la muestra de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 4

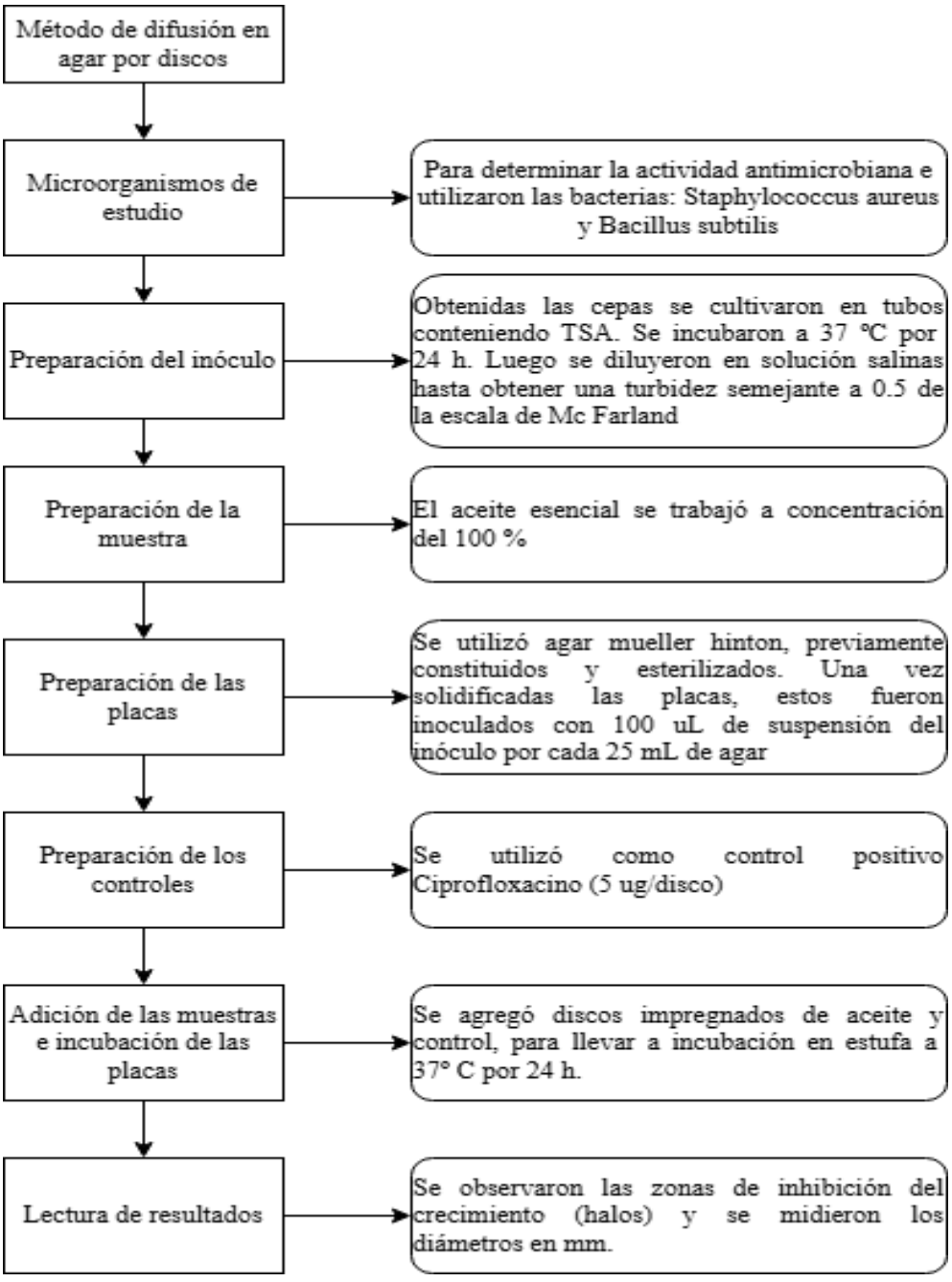
Flujograma para determinar el análisis fisicoquímico y microbiológico del aceite esencial de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 5

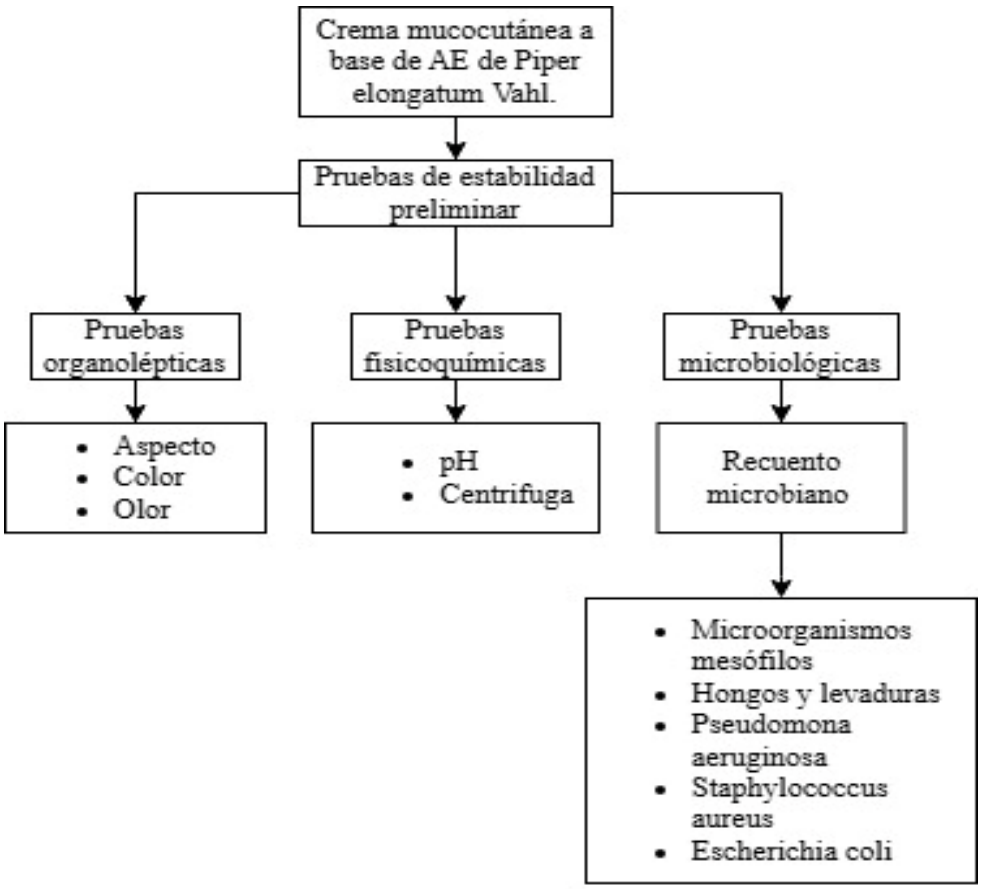
Flujograma para determinar la actividad antimicrobiana por método de difusión en agar por discos. Ayacucho 2025.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 6

Flujograma para determinar pruebas de estabilidad preliminar de la crema mucocutánea a base de aceite esencial de Piper elongatum Vahl. Ayacucho 2025.



Nota. Elaboración propia.

Anexo 7

Análisis de datos en SPSS

Estadísticas de grupo

	Factor	N	Media	Desv. Error promedio
HI_S_aureus_10	Tween 20	4	7,7175	0,04404
	Tween 80	4	7,2275	0,03544

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
HI_S_aureus_10	Se asumen varianzas iguales	0,174	0,691	8,668	6	0,000	0,49000	0,05653	0,35167	0,62833
	No se asumen varianzas iguales			8,668	5,738	0,000	0,49000	0,05653	0,35012	0,62988

Nota. N = 4; Tween 20, promedio = 7,72 ± 0,04; Tween 80, promedio = 7,23 ± 0,04.

Estadísticas de grupo

	Factor	N	Media	Desv. Error promedio
HI_B_subtilis_10	Tween 20	4	6,8250	0,02179
	Tween 80	4	6,3850	0,01190

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
HI_B_subtilis_10	Se asumen varianzas iguales	1,385	0,284	17,719	6	0,000	0,44000	0,02483	0,37924	0,50076
	No se asumen varianzas iguales			17,719	4,643	0,000	0,44000	0,02483	0,37466	0,50534

Nota. N = 4; Tween 20, promedio = 6,83 ± 0,02; Tween 80, promedio = 6,39 ± 0,01.

Estadísticas de grupo

	Factor	N	Media	Desv. Error promedio
HI_S_aureus_25	Tween 20	4	8,0825	0,02689
	Tween 80	4	8,1950	0,02021
HI_B_subtilis_25	Tween 20	4	7,4925	0,00854
	Tween 80	4	7,8425	0,02175
HI_S_aureus_50	Tween 20	4	7,6550	0,10267
	Tween 80	4	8,1650	0,05838
HI_B_subtilis_50	Tween 20	4	7,3600	0,09229
	Tween 80	4	7,1850	0,01323

Nota. N = 4; los resultados están expresados en promedio ± error estándar de la media.

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
HI_S_aureus_25	Se asumen varianzas iguales	0,682	0,441	-3,345	6	0,016	-0,11250	0,03363	-0,19480	-0,03020
	No se asumen varianzas iguales			-3,345	5,569	0,017	-0,11250	0,03363	-0,19637	-0,02863
HI_B_subtilis_25	Se asumen varianzas iguales	2,824	0,144	-14,981	6	0,000	-0,35000	0,02336	-0,40717	-0,29283
	No se asumen varianzas iguales			-14,981	3,904	0,000	-0,35000	0,02336	-0,41550	-0,28450
HI_S_aureus_50	Se asumen varianzas iguales	1,117	0,331	-4,318	6	0,005	-0,51000	0,11811	-0,79901	-0,22099
	No se asumen varianzas iguales			-4,318	4,756	0,008	-0,51000	0,11811	-0,81835	-0,20165
HI_B_subtilis_50	Se asumen varianzas iguales	33,136	0,001	1,877	6	0,110	0,17500	0,09323	-0,05312	0,40312
	No se asumen varianzas iguales			1,877	3,123	0,154	0,17500	0,09323	-0,11518	0,46518

Nota. gl son los grados de libertad.

Descriptivos

		N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error	95% del intervalo de confianza para la media		Mínimo	Máximo
						Límite inferior	Límite superior		
HI_T20_S_aureus	10%	4	7,7175	0,08808	0,04404	7,5773	7,8577	7,60	7,79
	25%	4	8,0825	0,05377	0,02689	7,9969	8,1681	8,03	8,15
	50%	4	7,6550	0,20535	0,10267	7,3282	7,9818	7,52	7,96
	Total	12	7,8183	0,23061	0,06657	7,6718	7,9649	7,52	8,15
HI_T20_B_subtillis	10%	4	6,8250	0,04359	0,02179	6,7556	6,8944	6,80	6,89
	25%	4	7,4925	0,01708	0,00854	7,4653	7,5197	7,47	7,51
	50%	4	7,3600	0,18457	0,09229	7,0663	7,6537	7,20	7,57
	Total	12	7,2258	0,31736	0,09161	7,0242	7,4275	6,80	7,57
HI_T80_S_aureus	10%	4	7,2275	0,07089	0,03544	7,1147	7,3403	7,14	7,29
	25%	4	8,1950	0,04041	0,02021	8,1307	8,2593	8,16	8,25
	50%	4	8,1650	0,11676	0,05838	7,9792	8,3508	8,02	8,29
	Total	12	7,8625	0,47501	0,13712	7,5607	8,1643	7,14	8,29
HI_T80_B_subtillis	10%	4	6,3850	0,02380	0,01190	6,3471	6,4229	6,35	6,40
	25%	4	7,8425	0,04349	0,02175	7,7733	7,9117	7,80	7,90
	50%	4	7,1850	0,02646	0,01323	7,1429	7,2271	7,15	7,21
	Total	12	7,1375	0,62316	0,17989	6,7416	7,5334	6,35	7,90

Nota. N = 4; los resultados están expresados en promedio ± error estándar de la media.

Prueba de homogeneidad de varianzas

		Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
HI_T20_S_aureus	Se basa en la media	2,994	2	9	0,101
	Se basa en la mediana	0,529	2	9	0,607
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,529	2	3,541	0,630
	Se basa en la media recortada	2,366	2	9	0,149
HI_T20_B_subtillis	Se basa en la media	27,383	2	9	0,000
	Se basa en la mediana	16,393	2	9	0,001
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	16,393	2	5,779	0,004
	Se basa en la media recortada	26,429	2	9	0,000
HI_T80_S_aureus	Se basa en la media	2,788	2	9	0,114
	Se basa en la mediana	2,484	2	9	0,138
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	2,484	2	5,813	0,166
	Se basa en la media recortada	2,783	2	9	0,115
HI_T80_B_subtillis	Se basa en la media	0,959	2	9	0,419
	Se basa en la mediana	0,842	2	9	0,462
	Se basa en la mediana y con gl ajustado	0,842	2	7,866	0,466
	Se basa en la media recortada	0,974	2	9	0,414

Nota. gl son los grados de libertad.

ANOVA

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
HI_T20_S_aureus	Entre grupos	0,427	2	0,213	12,113	0,003
	Dentro de grupos	0,158	9	0,018		
	Total	0,585	11			
HI_T20_B_subtillis	Entre grupos	0,999	2	0,500	41,333	0,000
	Dentro de grupos	0,109	9	0,012		
	Total	1,108	11			
HI_T80_S_aureus	Entre grupos	2,421	2	1,211	178,976	0,000
	Dentro de grupos	0,061	9	0,007		
	Total	2,482	11			
HI_T80_B_subtillis	Entre grupos	4,262	2	2,131	2024,240	0,000
	Dentro de grupos	0,009	9	0,001		
	Total	4,272	11			

Nota. gl son los grados de libertad.

HI_T20_S_aureus

HSD Tukey[a]

		Subconjunto para alfa = 0,05	
Factor_2	N	1	2
50%	4	7,6550	
10%	4	7,7175	
25%	4		8,0825
Sig.		0,7880	1,0000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

HI_T20_B_subtillis

HSD Tukey[a]

		Subconjunto para alfa = 0,05	
Factor_2	N	1	2
10%	4	6,8250	
50%	4		7,3600
25%	4		7,4925
Sig.		1,0000	0,2560

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

HI_T80_S_aureus

HSD Tukey[a]

		Subconjunto para alfa = 0,05	
Factor_2	N	1	2
10%	4	7,2275	
50%	4		8,1650
25%	4		8,1950
Sig.		1,0000	0,8660

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

HI_T80_B_subtillis

HSD Tukey[a]

		Subconjunto para alfa = 0,05		
Factor_2	N	1	2	3
10%	4	6,3850		
50%	4		7,1850	
25%	4			7,8425
Sig.		1,0000	1,0000	1,0000

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

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 4,000.

Anexo 8

Matriz de definición y operacionalización de variables

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Dimensión	Indicadores	Escala de medición
Actividad antimicrobiana	Capacidad del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. para inhibir microorganismos patógenos.	Se evaluará mediante pruebas *in vitro* usando métodos de difusión en agar y microdilución en caldo frente a cepas bacterianas estándar.	• Eficacia inhibitoria • Potencia antimicrobiana	• Halos de inhibición • CIM	Razón
Estabilidad	Capacidad de la crema mucocutánea a base de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. para mantener sus propiedades físico-químicas durante el tiempo y condiciones de almacenamiento.	Se evaluará mediante el monitoreo diario de la crema mucocutánea sometida a diferentes condiciones (tiempo y temperatura).	• Estabilidad físico-química • Estabilidad microbiológica	• Cambio de aspecto, color, olor y valor de pH • Crecimiento microbiano	Ordinal Razón

Nota. Elaboración propia.

Anexo 9

Matriz de consistencia

Título: Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. y su incorporación a una crema mucocutánea.
Autor: Luis Miguel, APARI PASTOR

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
Problema general ¿Tendrá actividad antimicrobiana el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, y es posible incorporarlo en una crema mucocutánea estable?	**Objetivo general** Determinar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, así como su incorporación en una crema mucocutánea y la estabilidad fisicoquímica de la formulación.	**Hipótesis general** **HI:** El aceite esencial de *Piper elongatum Vahl*. presenta actividad antimicrobiana frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, y la formulación de la crema mucocutánea a base de este aceite presenta estabilidad fisicoquímica.	**Variable 1** Actividad antimicrobiana Indicadores • Halos de inhibición • Concentración inhibitoria mínima	**Alcance de investigación** Es una investigación de tipo descriptivo. **Diseño de investigación** Experimental de tipo pre experimento. **Población** Aceite esencial de hojas de *Piper elongatum* Vahl. que crecen en el anexo de Chacco y crema mucocutánea a base de dicho aceite. **Muestra** • 30 mL de aceite esencial de hojas de *Piper elongatum* Vahl. provenientes del anexo de Chacco, distrito de Quinua. • 100 g de crema O/A al 3% a base del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl.
Problemas específicos • ¿Cuál es el halo de inhibición producido por el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, mediante la técnica de difusión en agar?	**Objetivos específicos** • Evaluar los halos de inhibición producido por el aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, mediante la técnica de difusión en agar.	**Hipótesis específicas** • **H1.1:** El aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. presenta halos de inhibición frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*, en pruebas de difusión en agar.	**Variable 2** Estabilidad • Cambio de aspecto, color, olor y valor de pH • Crecimiento microbiano	

Anexo 9

Continuación …

Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología
• ¿Cuál es el halo de inhibición producido por emulsiones del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. con Tween 20 y 80 a concentraciones del 10%, 25% y 50%, frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*? • ¿Cuál es la concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*? • ¿La formulación de la crema mucocutánea con aceite de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. presenta estabilidad físico-química durante un periodo de 10 días bajo condiciones alternas de temperatura? • ¿La crema con aceite de *Piper elongatum* Vahl. cumple con los límites microbiológicos?	• Evaluar el halo de inhibición producido por emulsiones del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. con Tween 20 y 80 a concentraciones del 10%, 25% y 50%, frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.* • Determinar la concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*. • Evaluar la estabilidad físico-química de la formulación de la crema mucocutánea con aceite de aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. durante un periodo de 10 días bajo condiciones alternas de temperatura. • Evaluar los límites microbiológicos crema a base de aceite de *Piper elongatum* Vahl.	• **H1.2:** La emulsión del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. con Tween 20 y 80 a concentraciones del 10%, 25% y 50%, producirá halos de inhibición de diferentes diámetros frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis.* • **H1.3:** El aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. presenta un CIM frente a *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis* mayor a 4,5 mg/ml. • **H1.4:** La crema mucocutánea de uso tópico conserva sus parámetros físicos y químicos durante el inicio y al término de un estudio de pre-estabilidad. • **H1.5:** La crema con aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. conserva los límites microbiológicos durante el inicio y al término de un estudio de pre-estabilidad.		**Análisis de datos** Para la contrastación de hipótesis se tiene las siguientes consideraciones: la pregunta de investigación es de comparación de dos grupos (antes y después), la escala de medición de razón. Por lo tanto, se usará la prueba de T de Student de muestras relacionadas al 95 % de nivel de confianza. Para ello, primero se realizará la prueba de normalidad, prueba de homogeneidad de varianzas de Levene. Los resultados se presentarán en tablas y/o figuras. Y para el análisis de datos se utilizará el SPSS.

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

RESOLUCIÓN DECANAL N° 480–2025-UNSCH-FCSA-D

BACHILLER: Luis Miguel APARI PASTOR

En la ciudad de Ayacucho, siendo las ocho de la mañana del día treinta de junio del dos mil veinticinco, se reunieron en el Aula J-201, los docentes miembros del jurado evaluador de sustentación, para el acto de sustentación de trabajo de tesis titulado: **Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Piper elongatum Vahl. y su incorporación a una crema mucocutánea.** Presentado por el bachiller Luis Miguel APARI PASTOR para optar el título profesional de Químico Farmacéutico.
El Jurado evaluador de sustentación está conformado por:

Presidente (delegado por el Decano)	: Prof. Maricela López Sierralta
Miembros	: Prof. Maricela López Sierralta
	: Prof. Juan Clímaco Paniagua Segovia
4to jurado	: Prof. Danny Roosvell Córdova De La Cruz
asesor	: Prof. Marco Rolando Arones Jara
secretaria Docente	: Prof. Priscila Licas Conde

Con el quorum de reglamento se dio por inicio la sustentación de tesis, el presidente de la comisión pide a la secretaria docente dar lectura a los documentos presentados por la recurrente, y da algunas indicaciones a la sustentante.
Da inicio la exposición el Bachiller: Luis Miguel APARI PASTOR, y una vez concluida la exposición, el presidente de la comisión solicita a los miembros del jurado evaluador realizar sus respectivas preguntas. Acto seguido, después de realizar algunas observaciones, da pase al asesor de tesis profesor Marco Rolando Arones Jara para que pueda realizar algunas aclaraciones y comentarios.

Concluida la ronda de preguntas, el presidente invita al sustentante para abandonar el auditorio y se pueda proceder con la calificación.

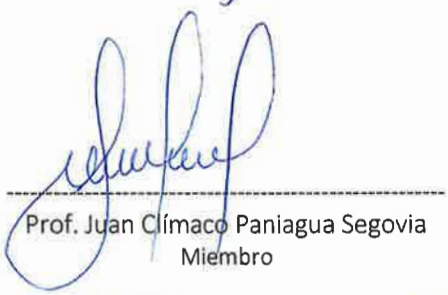
RESULTADO DE LA EVALUACIÓN FINAL

JURADOS	TEXTO	EXPOSICIÓN	PREGUNTAS	P.FINAL
Prof. Maricela López Sierralta	18	18	18	**18**
Prof. Juan Clímaco Paniagua Segovia	17	17	17	**17**
Prof. Danny Roosvell Córdova De La Cruz	17	17	17	**17**
PROMEDIO FINAL:			**17**	

De la evaluación realizada por los miembros del jurado calificador, llegaron al siguiente resultado: Aprobar al Bachiller Luis Miguel APARI PASTOR, quien obtuvo la nota final de **Diecisiete (17)** para la cual los miembros del jurado evaluador firman al pie del presente. Siendo las 09:30 horas del día, se da por concluido el presente acto académico.

Prof. Maricela López Sierralta
Presidente

Prof. Maricela López Sierralta
Miembro



Prof. Juan Clímaco Paniagua Segovia
Miembro

Prof. Danny Roosvell Córdova De La Cruz
Miembro

Prof. Marco Rolando Arones Jara
Asesor

Prof. Priscila Licas Conde
Secretaria Docente

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANA

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

El Instructor en Segunda Instancia, en virtud de la RCU N.° 039-2021-UNSCH-CU, y en calidad de director de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, emite la presente

CONSTANCIA

DE ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

A Luis Miguel Apari Pastor, Bachiller de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud, en mérito a que la tesis titulada: Actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper elongatum* Vahl. y su incorporación a una crema mucocutánea.; ha alcanzado un índice de similitud de 26% (veintiseis); cumpliendo satisfactoriamente lo establecido en el Art. 13 del Reglamento de Originalidad de Trabajos de investigación de la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga mediante el uso del SOFTWARE TURNITIN.

En ese sentido, se emite la presente constancia en señal de conformidad.

Ayacucho, 05 de julio de 2025.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Marco R. Aronés Jara
DIRECTOR

Constancia N° 019-2025

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Piper elongatum Vahl. y su incorporación a una crema mucocutánea.

por Luis Miguel Apari Pastor

Fecha de entrega: 05-jul-2025 10:53p.m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 2710627162
Nombre del archivo: BORRADOR_DE_TESIS_CORREGIDO_-_LUIS_APARI_2025_FINAL__1_1.pdf (3.34M)
Total de palabras: 18708
Total de caracteres: 101490

Actividad antimicrobiana del aceite esencial de Piper elongatum Vahl. y su incorporación a una crema mucocutánea.

INFORME DE ORIGINALIDAD

26%	21%	5%	15%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	Submitted to Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Trabajo del estudiante	12%
2	hdl.handle.net Fuente de Internet	4%
3	repositorio.utc.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
5	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	www.scielo.org.pe Fuente de Internet	1%
7	repositorio.unj.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	alicia.concytec.gob.pe Fuente de Internet	1%

9	revistas.unlp.edu.ar Fuente de Internet	1 %
10	oldri.ues.edu.sv Fuente de Internet	1 %
11	repositorio.unsaac.edu.pe Fuente de Internet	1 %
12	repositorio.unid.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	repository.udca.edu.co Fuente de Internet	<1 %
14	www.anvisa.gov.br Fuente de Internet	<1 %
15	repositorio.upads.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
16	revistas.pucp.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
17	www.grafiati.com Fuente de Internet	<1 %
18	sqperu.org.pe Fuente de Internet	<1 %
19	aprenderly.com Fuente de Internet	<1 %
20	doczz.es Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas	Activo	Excluir coincidencias	< 30 words
Excluir bibliografía	Activo		