



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA

SEDE CUENCA

CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS

EXTRACTOS DE *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*

FRENTE A *Malassezia furfur*

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Ingeniera Biotecnóloga

AUTORAS: SÓSENA CRISTINA MONCAYO NAULA

KAREN VIVIANA SIVIPASA PINOS

TUTORA: DRA. MÓNICA JUDITH ESPADERO BERMEO, MSc.

Cuenca - Ecuador

2024

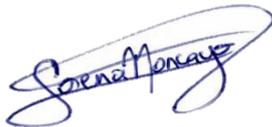
**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Nosotros, Sósená Cristina Moncayo Naula con documento de identificación N° 0750745150 y Karen Viviana Sivisapa Pinos con documento de identificación N° 0106723364; manifestamos que:

Somos las autoras y responsables del presente trabajo; y, autorizamos a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 31 de julio del 2024.

Atentamente,



Sósená Cristina Moncayo Naula

0750745150



Karen Viviana Sivisapa Pinos

0106723364

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Nosotros, Sósená Cristina Moncayo Naula con documento de identificación N° 0750745150 y Karen Viviana Sivisapa Pinos con documento de identificación N° 0106723364, expresamos nuestra voluntad y por medio del presente documento cedemos a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que somos autoras del Trabajo experimental: “Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Ingeniera Biotecnóloga, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 31 de julio del 2024.

Atentamente,



Sósená Cristina Moncayo Naula

0750745150



Karen Viviana Sivisapa Pinos

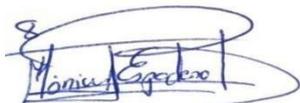
0106723364

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Mónica Judith Espadero Bermeo con documento de identificación N° 0103645412, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE LOS EXTRACTOS DE *Allium cepa*, *Allium sativum* Y *Allium schoenoprasum* FRENTE A *Malassezia furfur*”, realizado por Sósena Cristina Moncayo Naula con documento de identificación N° 0750745150 y por Karen Viviana Sivisapa Pinos con documento de identificación N° 0106723364, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 31 de julio del 2024.

Atentamente,



Dra. Mónica Judith Espadero Bermeo, MSc.

0103645412

DEDICATORIA

A mis padres, Mario y Yaritza, quienes con su amor y apoyo incondicional, han sido el pilar fundamental en mi vida. A ustedes, que me han enseñado a luchar por esos sueños, sus palabras de aliento han sido mi refugio en los momentos difíciles y mi mayor motivación para seguir adelante.

A mis abuelos, Colón y Martha, y a mi tía Tity, a quienes perdí en el camino pero sé que estarían muy felices ahora. Aunque no estén físicamente presentes, sus enseñanzas y el amor que compartimos continúan siendo una luz que ilumina mi camino, y me consuela saber que de alguna manera están presentes en cada uno de mis logros.

Me dedico este logro a mí misma, reconociendo mi fortaleza y determinación para seguir adelante a pesar de los desafíos. Este es un homenaje a mi crecimiento personal, me celebro a mí misma por no rendirme y por seguir creyendo en mi potencial.

Sósená Cristina Moncayo Naula

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco profundamente a mis padres, Mario y Yaritza, por el enorme esfuerzo y sacrificio que han realizado para que yo pudiera cumplir uno de mis sueños.

A mis hermanos, Mario Fernando y Mario Servio, gracias por acompañarme y siempre sacarme una sonrisa.

A mi familia y amigos, gracias por su presencia y apoyo emocional, sus palabras de aliento durante todo este camino fueron un motor importante en aquellos momentos que tenía dudas.

A mis profesores, quienes me han proporcionado conocimientos necesarios en mi formación académica. En especial, agradezco a mi tutora, Dra. Mónica Espadero, por su orientación y su constante apoyo. De igual manera, al personal del laboratorio: Ing. Sandy, Ing. Tatiana e Ing. Marlon, por su colaboración y comprensión durante el trabajo experimental.

Finalmente, quiero agradecer a todas las personas que de cualquier manera han contribuido en este camino y a la culminación de este proyecto.

Sósená Cristina Moncayo Naula

DEDICATORIA

A mi querida hija Fiorella Martina, quien ha sido una fuente inagotable de amor y motivación. Su alegría y su presencia en mi vida han sido mi mayor inspiración y mi motor fundamental para seguir adelante y alcanzar esta meta.

A mi abuelito Enrique Alfredo, aunque no esté presente, yo sé donde quiera que esté siempre estuvo cuidándome y guiándome en este proceso. Lo llevo en mi corazón.

A mi familia, de igual manera por su amor y apoyo incondicional ha sido la base de todos mis logros. A mis padres Nancy y Víctor que me ayudaron, aconsejaron y estuvieron a mi lado en los momentos más difíciles, me han brindado todo lo que soy como persona, siempre impulsando para conseguir mis objetivos y superar cada desafío.

Me dedico este trabajo a mi misma, como reconocimiento a mi perseverancia, esfuerzo y compromiso. A lo largo de este proceso he aprendido a superar los desafíos y a mantenerme firme frente a las dificultades, y me enorgullece ver el resultado de todo ese esfuerzo constante plasmado en este proyecto.

Karen Viviana Sivasapa Pinos

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios y a mi familia cuyo amor y comprensión han sido el pilar de mi fortaleza. A mis padres Nancy y Víctor, a mis hermanas Tatiana y Yessenia, y a mi hija Fiorella, por su paciencia, apoyo incondicional y por ser mi mayor fuente de motivación. Su fe en mí ha sido un factor determinante en la culminación de este proyecto.

También quiero expresar mi gratitud a mi tutora de tesis Dra. Mónica Espadero, quien ha sabido guiarme paso a paso durante todo el desarrollo de este proyecto dándome ánimos, consejos y motivándome a seguir adelante. De igual manera a la Ingeniera Sandy, Tatiana y al Ingeniero Marlon quienes siempre estuvieron brindándome su apoyo y colaboración frente a las dificultades presentadas en la elaboración de este proyecto.

A mis profesores, quienes siempre estuvieron dispuestos a brindarme todos sus conocimientos y enseñarme nuevos aprendizajes que me ayudaran a convertirme en una excelente profesional.

También quiero reconocer a mis amigos e instituciones por su apoyo emocional y académico, Su ayuda y aliento han sido valiosos en esta etapa. Finalmente, agradezco a todas las personas, por haber sido parte de este logro y por contribuir de manera significativa en la culminación de este proyecto.

Karen Viviana Sivilapa Pinos

ÍNDICE

RESUMEN	18
ABSTRACT	19
CAPÍTULO 1	20
1.1. Introducción	20
1.2. Planteamiento del Problema	21
1.3. Pregunta de Investigación	23
1.4. Delimitación del Problema	233
1.5. Justificación	244
1.6. Objetivos	255
1.6.1. Objetivo General	255
1.6.2. Objetivos Específicos	255
1.7. Hipótesis	266
CAPÍTULO 2	26
2. Marco de Referencia	266
2.1. Antecedentes de la Investigación	266
2.2. Bases Teóricas	277
2.2.1. <i>Allium cepa</i> (cebolla)	277
2.2.1.1. Taxonomía de <i>Allium cepa</i>	288
2.2.1.2. Características botánicas	288
2.2.1.3. Características químicas	299
2.2.1.4. Usos medicinales	299
2.2.2. <i>Allium sativum</i> (ajo)	30
2.2.2.1. Taxonomía de <i>Allium sativum</i>	30
2.2.2.2. Características botánicas	30
2.2.2.3. Características químicas	31

2.2.2.4. Usos medicinales	31
2.2.3. <i>Allium schoenoprasum</i> (cebollín)	322
2.2.3.1. Taxonomía de <i>Allium schoenoprasum</i>	322
2.2.3.2. Características botánicas	333
2.2.3.3. Características químicas	333
2.2.3.4. Usos Medicinales	343
2.3. Extractos Vegetales	344
2.3.1. Métodos de obtención de extractos vegetales	344
Extracción Mecánica	355
Percolación	355
Método Soxhlet	355
Extracción discontinua o simultánea	355
Maceración	365
Digestión	366
Infusión	366
Decocción	36
2.4. Screening Fitoquímico	377
2.4.1. Ensayos para determinar los distintos grupos de metabolitos presentes en los extractos vegetales	377
Alcaloides: Ensayo de Dragendorff y Mayer	377
Flavonoides: Ensayo de Shidona	377
Taninos: Ensayo de Cloruro Férrico	388
Saponinas: Prueba de Espuma	388
Compuestos Sulfurados: Prueba de Nitroprusiato de Sodio	388
2.5. Descripción de <i>Malassezia furfur</i>	388
2.5.1. Clasificación Taxonómica	399

2.5.2. Caracterización Morfológica, Fisiológica y Bioquímica	40
2.6. Métodos para evaluar in vitro la actividad antimicótica	40
2.6.1. Difusión en discos	411
2.6.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)	411
2.6.3. Microdilución en caldo	422
CAPÍTULO 3	422
3. Metodológico	422
3.1. Nivel de Investigación	422
3.2. Diseño de Investigación	432
3.3. Diseño experimental	433
3.4. Unidad Experimental	444
3.5. Población y Muestra	444
3.6. Variables	444
3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	455
3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	455
3.9. Protocolo Experimental	465
3.9.1. Acondicionamiento del material vegetal	465
3.9.1.1. Obtención de las muestras vegetales	466
3.9.1.2. Lavado y secado de las muestras vegetales	487
3.9.1.3. Trituración de las muestras vegetales	49
3.9.2. Preparación y obtención de extractos etanólicos	50
3.9.3. Screening fitoquímico	521
Prueba para Alcaloides: Ensayo de Dragendorff	521
Prueba para Flavonoides: Ensayo de Shinoda	521
Prueba para Taninos: Ensayo de cloruro férrico	532
Prueba para Saponinas: Prueba de espuma	532

Prueba para Compuestos Sulfurados: Prueba de Nitroprusiato de Sodio	532
3.9.4. Preparación de medios de cultivos	532
3.9.5. Activación de la cepa <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521	543
3.9.6. Método de difusión en Agar de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i>	554
3.9.6.1. Preparación del inóculo fúngico	554
3.9.6.2. Siembra del inóculo en Agar Sabouraud Dextrosa	565
3.9.6.3. Procedimiento para preparación de discos	576
3.9.6.4. Difusión de discos de extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i>	576
3.9.7. Método de microdilución en caldo de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i>	587
3.9.7.1. Preparación del inóculo fúngico	587
3.9.7.2. Preparación de las muestras de extractos para las pruebas de microdilución	588
3.9.7.3. Preparación de los controles para las pruebas de microdilución	598
3.9.7.4. Procedimiento de la prueba de microdilución	598
3.9.7.5. Procedimiento del Ensayo colorimétrico bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difeníl tetrazolio (MTT)	59
3.9.8. Comparación de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i>	60
CAPÍTULO 4	610
4. Resultados y Discusión	610
4.1. Obtención de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i>	610
4.2. Identificación de metabolitos secundarios presentes en los extractos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i> mediante screening fitoquímico	621
4.3. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium</i>	

<i>sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i> mediante el método de difusión en agar	676
4.4. Determinación de la CMI de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i> mediante el método de microdilución en caldo	68
4.5. Comparación de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de <i>Allium cepa</i> , <i>Allium sativum</i> y <i>Allium schoenoprasum</i> mediante análisis estadístico	69
CAPÍTULO 5	83
5. Conclusiones y Recomendaciones	83
5.1. Conclusiones	83
5.2. Recomendaciones	84
REFERENCIAS	85
ANEXOS	96

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Muestra vegetal de <i>Allium cepa</i> (cebolla).	477
Figura 2. Muestra vegetal de <i>Allium sativum</i> (ajo).	477
Figura 3. Muestra vegetal de <i>Allium schoenoprasum</i> (cebollín).	477
Figura 4. Pedazos de <i>Allium cepa</i> (cebolla).	48
Figura 5. Pedazos de <i>Allium sativum</i> (ajo).	48
Figura 6. Pedazos de <i>Allium schoenoprasum</i> (cebollín).	49
Figura 7. Proceso de molido de las muestras vegetales.	49
Figura 8. Proceso de maceración en frío del polvo de muestras vegetales	50
Figura 9. Proceso de filtración y concentrado de extractos.	521
Figura 10. Medio SDA en placas petri de vidrio estériles.	543
Figura 11. Inoculación de <i>Malassezia furfur</i> ATCC 14521 en placa Petri..	554
Figura 12. Inóculo fúngico en caldo Sabouraud.	565
Figura 13. Inoculación de cajas Petri.	565
Figura 14. Discos sumergidos en extractos etanólicos, control positivo y control negativo.	576
Figura 15. Difusión de discos en las respectivas cajas Petri.	57
Figura 16. Diseño de la bandeja de microdilución.	59
Figura 17. Microplaca de fondo plano con 96 pocillos utilizada para microdilución en caldo.	59
Figura 18. Ensayos de Dragendorff en los extractos vegetales.	654
Figura 19. Ensayos de Shinoda en los extractos vegetales.	654
Figura 20. Ensayos de Taninos en los extractos vegetales.	65
Figura 21. Ensayos de Saponinas en los extractos vegetales.	65
Figura 22. Ensayos de Compuestos Sulfurados en los extractos vegetales.	66
Figura 23. Cajas Petri con halos de inhibición.	66
Figura 24. Ensayo colorimétrico en microplaca con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT).	69
Figura 25. Cuartil - Cuartil (Q-Q plot)	70

Figura 26. Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos transformados	731
Figura 27. Efecto inhibitorio de extractos etanólicos y control (+) frente a <i>Malassezia furfur</i> .	73
Figura 28. Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos en <i>Allium cepa</i>	75
Figura 29. Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos en <i>Allium sativum</i>	78
Figura 30. Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos en <i>Allium schoenoprasum</i>	81

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Allium cepa</i> .	288
Tabla 2. Taxonomía de <i>Allium sativum</i> .	30
Tabla 3. Taxonomía de <i>Allium schoenoprasum</i> .	332
Tabla 4. Taxonomía de <i>Malassezia furfur</i> .	39
Tabla 5. Criterio de interpretación para un antimicrobiano "X".	411
Tabla 6. Tratamientos realizados en la parte experimental.	443
Tabla 7. Materiales y equipos utilizados para el tratamiento inicial de muestras vegetales.	466
Tabla 8. Resultados obtenidos de los extractos etanólicos.	610
Tabla 9. Resultados del screening fitoquímico de los extractos etanólicos.	631
Tabla 10. Actividad antifúngica de extractos etanólicos, control positivo y control negativo frente a <i>Malassezia furfur</i> .	67
Tabla 11. Resultados obtenidos del efecto inhibitorio de los extractos etanólicos y control (+) frente a <i>Malassezia furfur</i> .	69
Tabla 12. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk.	710
Tabla 13. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos transformados.	721
Tabla 14. Análisis de varianza (ANOVA) de datos transformados..	731
Tabla 15. Supuestos del modelo ANOVA.	732
Tabla 16. Efecto inhibitorio de extractos etanólicos y control (+) frente a <i>Malassezia furfur</i> .	742
Tabla 17. Resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Allium cepa</i> frente a <i>Malassezia furfur</i>	73
Tabla 18. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos en <i>Allium cepa</i>	74
Tabla 19. Análisis de varianza (ANOVA) de datos en <i>Allium cepa</i>	75
Tabla 20. Supuestos del modelo ANOVA	75
Tabla 21. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Allium cepa</i> frente a <i>Malassezia furfur</i>	76

Tabla 22. Resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Malassezia furfur</i>	76
Tabla 23. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos en <i>Allium sativum</i> .	78
Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) de datos en <i>Allium sativum</i>	78
Tabla 25. Supuestos del modelo ANOVA	79
Tabla 26. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Allium sativum</i> frente a <i>Malassezia furfur</i>	79
Tabla 27. Resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Allium schoenoprasum</i> frente a <i>Malassezia furfur</i>	80
Tabla 28. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos en <i>Allium schoenoprasum</i>	81
Tabla 29. Análisis de varianza (ANOVA) de datos en <i>Allium schoenoprasum</i>	82
Tabla 30. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de <i>Allium schoenoprasum</i> frente a <i>Malassezia furfur</i>	82

RESUMEN

Actualmente las plantas son utilizadas por sus efectos curativos y la presencia de compuestos activos que favorecen la elaboración de medicamentos de síntesis, productos dermocosméticos, etc. *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín) a nivel mundial ha ido incrementando su uso debido a sus propiedades antifúngicas, antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias y cicatrizantes. El presente estudio se centra en la Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos obtenidos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*, una levadura lipofílica relacionado con diversas enfermedades cutáneas. Se llevó a cabo la extracción de los extractos etanólicos mediante maceración para ello se identificó posibles metabolitos secundarios mediante un screening fitoquímico. Posteriormente, se determinó la capacidad antifúngica de los extractos mediante el método de difusión de discos en agar y la concentración mínima inhibitoria a través de la microdilución en caldo. Los resultados del tamizaje fitoquímico revelaron la presencia de alcaloides, flavonoides, saponinas, taninos y compuestos sulfurados. En la difusión de discos en agar, *Allium sativum* (ajo) presentó mayor halo de inhibición con un promedio de 12.33 mm. En la microdilución en caldo *Allium cepa* (cebolla) presentó mejores concentraciones mínimas inhibitorias con las microdiluciones 2 y 0.25 uL/mL, *Allium sativum* (ajo) presentó mejores concentraciones mínimas inhibitorias con las microdiluciones 2, 1, 0.25, 0.13 y 0.06 uL/mL, y *Allium schoenoprasum* (cebollín) no evidenció diferencia significativa en las microdiluciones.

Palabras claves: Actividad antifúngica, *Allium cepa*, *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Malassezia furfur*.

ABSTRACT

At present, plants are used for their healing effects and the presence of active compounds that favor the development of synthetic medicines, dermocosmetic products, etc. *Allium cepa* (onion), *Allium sativum* (garlic) and *Allium schoenoprasum* (chives) have been increasingly used worldwide due to their antifungal, antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory and healing properties. The present study focuses on the in vitro evaluation of the antifungal activity of ethanolic extracts obtained from *Allium cepa*, *Allium sativum* and *Allium schoenoprasum* against *Malassezia furfur*, a lipophilic yeast related to various skin diseases. The ethanolic extracts were extracted by maceration, and possible secondary metabolites were identified by phytochemical screening. Subsequently, the antifungal capacity of the extracts was determined by the agar disk diffusion method and the minimum inhibitory concentration through broth microdilution. The results of the phytochemical screening revealed the presence of alkaloids, flavonoids, saponins, tannins and sulfur compounds. In the agar disk diffusion, *Allium sativum* (garlic) presented a greater inhibition halo with an average of 12.33 mm. In the broth microdilution, *Allium cepa* (onion) presented better minimum inhibitory concentrations with micro dilutions 2 and 0.25 uL/mL, *Allium sativum* (garlic) presented better minimum inhibitory concentrations with microdilutions 2, 1, 0.25, 0.13 and 0.06 uL/mL, and *Allium schoenoprasum* (chives) did not show significant differences in the microdilutions.

Keywords: Antifungal activity, *Allium cepa*, *Allium sativum*, *Allium schoenoprasum*, *Malassezia furfur*

CAPÍTULO 1

1.1. Introducción

Las plantas con fines curativos y sus productos derivados, han sido comúnmente aplicados por la medicina tradicional, su uso ha ido incrementando en la actualidad debido a sus propiedades antifúngicas, antimicrobianas, antioxidantes, antiinflamatorias y cicatrizantes. Por esta razón, la Organización Mundial de la Salud (OMS) incentiva el uso de los recursos medicinales tradicionales en el sistema de la salud (Silvers Anguieta, 2012).

Ecuador al ser un país megadiverso posee diversas plantas medicinales cuyos activos se obtienen a través de procesos como: maceración, percolación, infusión, decocción, etc, con la finalidad de extraer bioactivos como: flavonoides, taninos, fitoesteroles, compuestos fenólicos, cumarinas, saponinas, etc, utilizados como materias primas en diferentes campos como: fitofarmacéutica, cosmetología, perfumería, aromaterapia, fitoterapia y nutrición (Velazque Carrasco, 2019).

Las especies del género *Allium* como *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) son conocidas por ser perennes y por presentar una gran diversidad de formas como: bulbos y rizomas. Además, son especialmente reconocidas por su alta concentración de fitoquímicos conocidos como kaempferol, coniferol, lectina, alicina, que le confieren propiedades antimicóticas (Teotia et al., 2024). La mayoría de las propiedades beneficiosas y características del género *Allium* se deben a los compuestos organosulfurados, que son metabolitos secundarios producidos por las plantas (Deka et al., 2022).

Sin embargo, el uso de bioactivos de origen vegetal conlleva un importante desconocimiento en algunas ocasiones sobre cómo utilizarlas correctamente, sus posibles efectos tóxicos y la dosificación adecuada para alcanzar los resultados terapéuticos deseados (Tangarife Castaño, 2015, pág.209).

El género *Malassezia spp.* abarca un grupo de levaduras lipofílicas que forman parte de la microbiota de la piel del ser humano y otros vertebrados. No obstante, se han asociado con

diversas afecciones dermatológicas como: pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica (incluyendo caspa), foliculitis, dermatitis atópica, acné vulgaris, psoriasis, dacriocistitis, blefaritis seborreica, pustulosis neonatal, papilomatosis confluyente y reticulada, otitis e infecciones oportunistas sistémicas (Fernández et al., 2014). Actualmente se conocen 18 especies; según el estudio realizado por Fariña-González et al. (2019), las más frecuentes en el ser humano son *M. furfur*, *M. globosa*, *M. sympodialis*, *M. restricta* y *M. slooffiae*, las mismas que pueden convertirse en patógenos cuando hay diferentes factores como cambios en el microambiente de la piel o alteraciones en los mecanismos de defensa del huésped (Galvis et al., 2017).

La levadura lipofílica *Malassezia furfur*, es un componente de la microbiota cutánea que puede pasar de una forma de levadura a una forma micelial patógena (Youngchim et al., 2017, pág. 47-53) ocasionando la pitiriasis versicolor, dermatitis seborreica que son enfermedades cutáneas más comunes, se presenta como descamación e inflamación sobre las áreas del cuerpo ricas en glándulas sebáceas, como la cara, cuero cabelludo y parte superior del tronco. Su distribución mundial tiene mayor prevalencia en regiones tropicales y subtropicales (Gutiérrez Ninachoque & Ortiz de Orue Meza, 2022). Mediante un estudio, Sarmiento (2020) indica que del 3 - 10% de la población sufre de dermatitis seborreica, que a veces son difíciles de tratar con los tratamientos actuales. Por lo tanto, el avance de tratamientos antimicóticos son alternativas de gran importancia (Liu et al., 2022).

El propósito de este estudio es llevar a cabo la evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*. Es por ello, por lo cual el objetivo es respaldar tanto el uso científico como el tradicional de estas especies vegetales.

1.2. Planteamiento del Problema

El empleo de plantas medicinales ha despertado un creciente interés a nivel mundial. Desde tiempos antiguos, las personas han recurrido al uso de estas plantas siendo durante siglos los tratamientos más comunes entre la mayoría de la población y diversas comunidades étnicas (Alulema Salguero, 2011). Sin embargo, con la aparición de la industria farmacéutica y

los avances de la farmacología, las plantas pasaron a ser una fuente de bioactivos de medicamentos de síntesis, y más tarde, han sido reemplazados por éstos (Ruiz Quiroz, 2013). Esto se debe a que las personas cuestionan la seguridad y la efectividad de las terapias tradicionales, sobre si pueden interactuar con los medicamentos convencionales, los efectos secundarios que pueden provocar y sobre todo si las personas son capacitadas para su producción y si poseen constante actualización de conocimientos.

Los bioactivos de las plantas medicinales obtenidos mediante extractos son de gran importancia terapéutica debido a sus propiedades curativas, antifúngicas, antimicrobianas, antiinflamatorias, etc. El uso de bioactivos para combatir afecciones ocasionadas por hongos enfrenta muchos desafíos, ya que se desconoce con exactitud el potencial del tipo de plantas que puedan llegar a combatir un hongo en particular.

En los últimos años, se ha debatido sobre la participación de varias especies del género *Malassezia* que desempeñan un papel patógeno en diversas enfermedades de la piel como caspa y dermatitis seborreica (Chunata Sánchez, 2012). Entre las especies, *Malassezia furfur* es una levadura lipídica agente causal de alteraciones de la piel que se encuentra en la microbiota cutánea en forma de levadura, sin embargo, este puede causar lesiones en la piel cuando se encuentra en forma micelar patógena (Laokor & Juntachai, 2021).

Frecuentemente, las enfermedades asociadas con *Malassezia* necesitan tratamiento con fármacos antimicóticos durante periodos largos. El surgimiento de cepas de hongos resistentes presenta la necesidad de investigar principios activos de las plantas como fuente de antimicóticos alternativos. Por esta razón, se han realizado estudios sobre extractos de plantas, específicamente las del género *Allium* como posibles alternativas terapéuticas, pero la información ha sido relativamente limitada, lo que deja un vacío en nuestro conocimiento sobre el potencial de estos bioactivos para combatir eficazmente las infecciones causadas por este hongo.

Actualmente, el tratamiento de estas infecciones se centra en el uso de antimicóticos tanto tópicos como sistémicos. Sin embargo, se presentan importantes desafíos como los

efectos adversos en el sistema endocrino y reproductivo, su toxicidad para el hígado y los riñones. Además, estos antimicóticos son costosos y el tratamiento prolongado incrementa aún más los gastos, lo que lleva a que muchos pacientes abandonen la terapia antes de completarla, impidiendo alcanzar la curación total (Alulema Salguero, 2011).

Considerando todo lo mencionado, estamos en la búsqueda de bioactivos que puedan ofrecer opciones más favorables, como el uso de plantas medicinales debido a su accesibilidad y costo reducido. El objetivo de esta investigación es evaluar *in vitro* la actividad antimicótica de los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*. El presente estudio puede contribuir a la prevención y mejora de los resultados farmacológicos, proporcionando alternativas naturales para los diferentes problemas que pueden ocasionar los hongos.

1.3. Pregunta de Investigación

Se plantea la siguiente pregunta de investigación: ¿Los extractos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) presentan actividad antifúngica frente a *Malassezia furfur*?

1.4. Delimitación del Problema

La investigación titulada “Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*” se realizó en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Cuenca. El estudio se desarrolló durante un periodo de cuatro meses y se centró en condiciones controladas de laboratorio. Durante la investigación, se identificaron varias limitaciones potenciales, incluyendo la variabilidad en la composición de los extractos vegetales, la interferencia de compuestos secundarios, las limitaciones de la infraestructura disponible y la sensibilidad de las pruebas de laboratorio.

1.5. Justificación

Los saberes tradicionales son conocimientos que se han transmitido de una generación a otra, permitiendo a las comunidades utilizar los recursos naturales de forma sostenible (Ortiz Galindo, 2023). El papel que desempeña el conocimiento ancestral en el Ecuador relacionado con la naturaleza es indiscutible, por lo tanto, se convierte en una prioridad evitar la pérdida de este rico conocimiento de saberes tradicionales (Inlago Guasgua, 2014).

Es importante ampliar nuestro conocimiento acerca de las posibles alternativas terapéuticas para abordar infecciones cutáneas causadas por hongos. La resistencia antimicótica y los efectos secundarios asociados con los tratamientos convencionales representan importantes desafíos en la práctica médica. Por lo tanto, investigar el potencial de los extractos de plantas, específicamente del género *Allium* spp. como agentes antifúngicos, se presenta como una perspectiva prometedora para el desarrollo de terapias más efectivas y seguras.

Una investigación realizada por Albertuz Crespo (2021), afirma que el género *Allium* spp. tiene una alta capacidad antifúngica y es por ello que estas sustancias se consideran prometedoras, los compuestos derivados de este tipo de plantas han demostrado una considerable actividad antifúngica, como lo indican diversos estudios tanto in vitro como in vivo, frente a levaduras como las del género *Candida* o *Cryptococcus*, así como hongos filamentosos como los del género *Aspergillus* o *Fusarium*, dermatofitos y otros.

Najeebullah et al., (2021) en su investigación revela que miembros del género *Allium* spp. Tienen una fuente rica de fitoquímicos activos que aportan una amplia gama de actividades biológicas antifúngicas contra diferentes cepas de hongos.

Sin embargo, la actividad antifúngica frente a *Malassezia* spp., aún no ha sido ampliamente estudiada y existen pocos estudios que aborden el tema con relación a este tipo de hongo en particular. Por esa razón, este proyecto llevará a cabo una investigación experimental para evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*. Además, se podría tener importantes

implicaciones prácticas en el ámbito clínico y los resultados obtenidos podrían servir como base para el desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas a base de extractos del género *Allium* spp. para el tratamiento de las infecciones cutáneas causadas por *Malassezia furfur*. Estas formulaciones podrían ser más económicas, menos tóxicas y más sostenibles que los antifúngicos convencionales.

1.6. Objetivos

1.6.1. Objetivo General

Evaluar la actividad antifúngica de los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* sobre *Malassezia furfur* mediante pruebas *in vitro*.

1.6.2. Objetivos Específicos

- Identificar los posibles metabolitos secundarios en los extractos etanólicos obtenidos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) mediante screening fitoquímico para su uso posterior.
- Evaluar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) mediante el método de difusión en agar, determinando qué extracto tiene el mayor efecto antifúngico.
- Establecer la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) mediante el método de microdilución en caldo, comprobando su actividad antimicótica frente a *Malassezia furfur*.
- Comparar la actividad antifúngica de los extractos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) mediante análisis estadístico para la determinación de los mejores resultados de inhibición.

1.7. Hipótesis

Los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) presentan similar actividad antifúngica frente a *Malassezia furfur*.

CAPÍTULO 2

2. Marco de Referencia

2.1. Antecedentes de la Investigación

A lo largo de los años, varios estudios han investigado la actividad antimicótica de extractos vegetales, incluidos aquellos derivados de especies de *Allium* como *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) frente a diversos microorganismos, incluyendo también especies de *Malassezia spp.* A continuación, se presenta una revisión de los principales estudios relevantes en este campo:

Según Pesántez Domínguez et al., (2017) las variedades del género *Allium* como la cebolla, el ajo y el cebollino, son conocidas por sus diversos usos populares en todo el mundo y son de gran valor para los seres humanos, ya que tienen propiedades medicinales pudiendo actuar como antioxidantes, antibacterianos, antifúngicos, antiinflamatorios y antiplaquetarios.

En una revisión bibliográfica realizada por Kurnia et al., (2021) y (Najeebullah et al., (2021) se menciona que en la última década se han reportado varios estudios en los que bulbos, flores y hojas de las especies de *Allium* contienen una abundancia de metabolitos secundarios beneficiosos para la salud como polifenoles, flavonoides, saponinas, alcaloides y taninos.

Mediante un estudio farmacognóstico de *Allium schoenoprasum* ejecutado por Pesántez Domínguez et al., (2017) se estableció la composición cualitativa preliminar de los metabolitos secundarios mediante tamizaje fitoquímico. Aunque esta prueba no proporcionó conclusiones definitivas sobre la composición química debido a diversos factores que podrían influir en ciertas variaciones, sirve como guía en el estudio y el aislamiento de los posibles principios activos.

Mediante un ensayo de dilución en agar realizado por Shams-Ghahfarokhi et al., (2006), se evaluó la actividad antifúngica de extractos preparados a partir de *Allium cepa* y *Allium sativum* frente 25 cepas de *Malassezia furfur* en comparación con la actividad de un antifúngico como el ketoconazol. Se encontró que los extractos y el antifúngico inhibieron el crecimiento de las cepas de hongos alcanzando un máximo del 100% en concentraciones definidas. Estos resultados sugieren que la cebolla y el ajo podrían ser prometedores en el tratamiento de enfermedades causadas por este hongo.

En una investigación llevada a cabo por Diah (2018), se identificaron las diferencias en la zona de inhibición del hongo *Malassezia furfur* mediante el uso de *Allium sativum*. Se llevaron a cabo tres tratamientos con nueve repeticiones cada uno, empleando el método de extracción conocido como Soxhlet. La evaluación de la actividad antifúngica se realizó mediante el método de clasificación utilizando medio Saboroud Dextrose Agar (SDA), al cual se le inoculó una suspensión del hongo. Los resultados del análisis de los datos revelaron significativas zonas de inhibición en el tratamiento con extracto de este bulbo.

Un estudio elaborado por Pingili et al., (2016) concluye que los extractos de plantas como *Allium cepa* y *Allium sativum* demuestran una notable actividad contra *Malassezia furfur*, el hongo causante de la caspa. Estos extractos tienen propiedades antifúngicas y podrían emplearse de manera segura en el tratamiento de la caspa. Además, recomienda realizar estudios adicionales sobre las moléculas activas en estos extractos que son responsables de la actividad anticaspa y explorar la recurrencia de la caspa con el uso de estos extractos vegetales.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Allium cepa* (cebolla)

El *Allium cepa*, conocido comúnmente como cebolla colorada, es una planta que se considera un ciclo bienal. Según Vallejo Villalobos et al., (2008) esta es una especie originaria de Asia, posiblemente de Irán, que ahora se cultiva en todo el mundo. Requiere suelos sueltos y ricos en nutrientes con humedad constante, así como espacios abiertos y soleados. Tolera

bien las heladas ligeras, pero no resiste las nevadas ni las altas temperaturas del verano en el suroeste de la Península Ibérica.

2.2.1.1. Taxonomía de *Allium cepa*

La clasificación taxonómica de *A. cepa* se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Taxonomía de *Allium cepa*.

Nombre Común	Cebolla
Nombre Científico	<i>Allium cepa</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Liliales
Familia	Amaryllidaceae
Género	<i>Allium</i>
Especie	<i>Allium cepa</i> L.

Fuente: (Carillo Rodríguez, 2012)

2.2.1.2. Características botánicas

La cebolla es una planta bianual que puede alcanzar hasta 60 cm de altura, con bulbos de color blanquecino o púrpura. Cuando es joven, sus hojas están agrupadas en la base y posteriormente a lo largo del tallo. Las hojas son lineales, de margen entero, fistulosas, de color verde y con la vaina blanquecina. Sus flores se agrupan en inflorescencias tipo umbela, con tépalos blanquecinos. Los frutos son cápsulas que pueden ser ovoideas o semiesféricas (Vallejo Villalobos et al., 2008).

Esta planta tiene raíces fibrosas presentando entre 3 a 8 hojas. La base de las hojas es carnosa y forma bulbos que pueden ser redondos o alargados, según la variedad. Existen

diferentes tipos de variedades de esta planta, incluyendo cebollas amarillas, blancas, rojas y verdes (Kurnia et al., 2021).

2.2.1.3. Características químicas

La cebolla contiene una cantidad considerable de fibra dietética y azúcares, siendo aproximadamente un 90 por ciento de su composición agua. En término de vitaminas y minerales, presenta una baja concentración en sodio y una alta concentración de ácido fólico, vitamina B6, magnesio, calcio, potasio y fósforo. Además, tiene un bajo contenido de lípidos, y los únicos aminoácidos presentes en cantidades excepcionales son el ácido glutámico y la arginina (Chakraborty et al., 2022).

Los flavonoides contienen dos grupos de antocianidinas las que brindan el color rosado o violáceo de diferentes variedades de cebollas y los flavonoles como la quercetina (mayor cantidad en el bulbo), el kaempferol (rico en las hojas) y compuestos azufrados como el sulfóxido alquil cisteína, responsable del aroma (Jerez Vilte et al., 2017).

2.2.1.4. Usos medicinales

La cebolla es una planta con múltiples propiedades medicinales y es muy versátil en la cocina. Según Barraza et al., (2020) presenta los siguientes beneficios curativos:

- Trata problemas respiratorios como tos, resfriados, gripe y bronquitis.
- Protege contra enfermedades infecciosas.
- Es beneficiosa para personas con diabetes.
- Ayuda en casos de estreñimiento y elimina parásitos intestinales.
- Combate la caspa y previene la caída del cabello.
- Limpia y rejuvenece la piel.
- Alivia problemas de próstata en hombres.
- Útil durante la convalecencia, astenia y para enfermedades infecciosas.
- Mejora trastornos cardíacos, hipertensión y arteriosclerosis.
- Alivia digestiones lentas y flatulencias.

- Reduce nerviosismo, insomnio y depresiones menores.
- Ayuda en casos de reumatismo, obesidad y celulitis.

2.2.2. *Allium sativum* (ajo)

El *Allium sativum*, conocido también como ajo, se caracteriza por su aroma distintivo, lo que llevó a su denominación con el término *Allium*, que significa "oloroso" en latín. Es una planta originaria de Asia central que se ha propagado por todo el mundo, especialmente en los países mediterráneos. Su cultivo es común en suelos de diferentes tipos en suelos sueltos, ricos, limo-arenosos, húmedos, profundos y drenados; Zonas montañosas con clima templado o frío entre 1.000 y 2.400 metros sobre el nivel del mar (Gutiérrez et al., 2021).

2.2.2.1. Taxonomía de *Allium sativum*

La clasificación taxonómica de *A. sativum* se presenta en la Tabla 2.

Tabla 2. Taxonomía de *Allium sativum*.

Nombre Común	Ajo
Nombre Científico	<i>Allium sativum</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Orden	Liliales
Familia	Amaryllidaceae
Género	<i>Allium</i>
Especie	<i>Allium sativum</i> L.

Fuente: (García Carillo, 2008)

2.2.2.2. Características botánicas

Es una planta herbácea anual que ha sido cultivada durante unos 5000 años en Oriente Medio. Es fácil de cultivar en regiones frías y produce bulbos formados por varios dientes. Cada

tallo puede tener entre 4 a 40 dientes. El bulbo puede alcanzar un tamaño de 25 a 70 cm, está rodeado de hojas largas, planas y enrolladas. Sus flores son de color blanco verdoso y tienen aproximadamente 3 mm de largo (Kurnia et al., 2021).

2.2.2.3. Características químicas

Allium sativum contiene una alta concentración de compuestos de azufre como la alicina, el disulfuro de dialilo, la S-alilcisteína, aliina y el trisulfuro de dialilo, que son responsables de sus propiedades terapéuticas. Además, proporciona una variedad de fitomoléculas biológicamente activas incluyendo compuestos organosulfurados, ácidos fenólicos, tiosulfatos de alilo, flavonoides, fitoesteroles, polifenoles (Oyawoye et al., 2022). Por otra parte, la alicina es un compuesto inestable y sufre degradación y transformación obteniendo como resultado compuestos organoazufrados volátiles (Ramirez, 2022) entre ellos el ajoene un bioactivo estable en agua y puede ser sintetizado químicamente, hay evidencia que indica que ciertos componentes del ajo tienen una amplia gama de efectos en diversos sistemas biológicos (Ledezma & Castro, 2006).

En una investigación Alcaraz et al., (2013) se han reportado otros componentes como fibra, altos niveles de vitamina A y C, bajos niveles de vitaminas del complejo B, y 17 aminoácidos como ácido aspártico, asparagina, alanina, arginina, fenilalanina, histidina, leucina, metionina, prolina, serina, treonina, triptófano y valina. En cuanto a los minerales como potasio, fósforo, magnesio, sodio, hierro y calcio. Se considera que la concentración de estos minerales va depender del suelo donde crecen los bulbos.

2.2.2.4. Usos medicinales

Allium sativum se ha utilizado como medicina herbaria para tratar el asma, la bronquitis, la gripe y los resfriados, además, sirve como tratamiento para infecciones respiratorias como el asma. Así mismo, sirve como hipotensor, diurético y antiparasitario (Gutiérrez et al., 2021, pág.474).

Según Saz Peiro & Tejero Lainez (2020), los compuestos del ajo que nos otorgan sus propiedades medicinales son: fructosanas, aceite esencial, enzimas, adenosina (0.5%), sales minerales y pequeñas cantidades de vitaminas, su acción farmacológica puede ser:

- Hipolipemiente por inhibir la síntesis de colesterol y triglicéridos.
- Antiagregante plaquetario, acción debida a los ajoenos, que actúan inhibiendo los receptores plaquetarios para el fibrinógeno.
- Antiséptico, bacteriostático, bactericida, parasiticida, antiviral y fungicida.
- Fluidificante de las secreciones bronquiales.
- Hipoglucemiante, con una actividad equiparable a la tolbutamida.
- Antioxidante, especialmente frente a radicales hidroxílicos y lipoperóxidos.
- Anticanceroso por su acción antioxidante, estimulación de macrófagos e inhibidor de crecimiento células tumorales.

2.2.3. *Allium schoenoprasum* (cebollín)

El *Allium schoenoprasum*, conocido como cebollino, es una planta de la familia de las amarilidáceas que se utiliza comúnmente en el ámbito doméstico. Sus bulbos son los más empleados y se recomiendan para aumentar el apetito o prevenir la arteriosclerosis. También, son utilizados tradicionalmente como agente hipocolesterolémico y tónico digestivo (Pesántez Domínguez et al., 2019).

2.2.3.1. Taxonomía de *Allium schoenoprasum*

La clasificación taxonómica de *A. schoenoprasum* se presenta en la Tabla 3.

Tabla 3. Taxonomía de *Allium schoenoprasum*.

	Nombre Común	Cebollín	
	Nombre Científico	<i>Allium schoenoprasum</i>	
	Reino	Plantae	
	División	Magnoliophyta	
	Clase	Liliopsida	
Fuente:	Orden	Liliales	(Bonilla
Correa &	Familia	Amaryllidaceae	Pérez Gil,
2010)	Género	<i>Allium</i>	
	Especie	<i>Allium schoenoprasum</i> L.	

2.2.3.2. Características botánicas

Es una de las plantas de especias más importantes en Europa Central y se cultiva extensamente en varios países como Austria, Francia, Alemania y Países Bajos. Morfológicamente, esta planta puede adaptarse fácilmente a hábitats secos y soleados. Esta especie presenta un bulbo delgado con forma cónica, que mide entre 2 a 3 cm de longitud y 1 cm de ancho. Sus hojas son huecas y comestibles, con un suave sabor a cebolla. Otra característica distintiva de esta planta es su tallo hueco y suave, en forma de tubo, con un diámetro de 23 mm y sus flores de color violeta (Kurnia et al., 2021).

2.2.3.3. Características químicas

Este autor Pesantes Domínguez et al., (2017) nos da la información un poco más explícita donde encuentra la composición química como por ejemplo: flavonoides como quercetina, rutina, kaempferol e isorhamnetina. Otro autor, Pesántez et al., (2019), reporta la presencia de compuestos azufrados, algunos compuestos fenólicos, antocianidinas, ácidos grasos, esteroides, flavonoles, flavonas y tiosulfatos.

2.2.3.4. Usos Medicinales

En la medicina tradicional, se utilizan las hojas y los bulbos de la planta para tratar la disentería, diarrea y flatulencias. Además, se le atribuyen propiedades afrodisíacas, estimulantes, expectorantes y diuréticas. En algunas regiones de Ecuador, también se usa para reducir los niveles de colesterol en la sangre (Pesantes et al., 2017). También mejora el sistema circulatorio, fortalece el sistema inmunológico, mejora el sistema digestivo y fortalece los huesos.

2.3. Extractos Vegetales

Los extractos vegetales se caracterizan por la presencia de diferentes compuestos químicos conocidos como metabolitos secundarios, obtenidos de diferentes partes de las plantas, como hojas, raíces, flores, semillas o cortezas, a través de diversos métodos de extracción (Ruiz Quiroz, 2013) .

Uno de los aspectos fundamentales en la obtención de extractos vegetales es asegurar altos rendimientos del material vegetal y un elevado contenido de principios activos. La conservación adecuada de los extractos es crucial para prevenir la volatilización de los componentes fitoquímicos. Para lograrlo, se deben seguir ciertas especificaciones, como proteger los extractos de la luz solar envolviéndolos en papel de aluminio, sellar bien los envases para evitar pérdidas y almacenarlos en un lugar fresco, preferiblemente oscuro (Morales Guamán, 2020).

2.3.1. Métodos de obtención de extractos vegetales

La elección del método de extracción depende del tipo de compuesto fitoquímico que se busca obtener. Esto implica considerar si se trata de un metabolito primario o secundario, un compuesto activo específico o un compuesto bioactivo desconocido. Cuando el compuesto bioactivo no está identificado, es necesario llevar a cabo pruebas cualitativas para detectar la presencia de familias de compuestos, como alcaloides, saponinas, taninos, ácidos fenólicos, entre otros. (Morales Guamán, 2020).

Los extractos vegetales pueden ser obtenidos mediante métodos físicos, químicos y microbiológicos, a partir de una fuente vegetal, y tienen aplicaciones en diversos campos, incluyendo la industria química y médico-farmacéutica (Amaguaña Rojas & Churuchumbi Rojas, 2018).

En la extracción con solventes es importante considerar la selectividad, la solubilidad, el coste y la seguridad del solvente, así como la estabilidad térmica de la muestra, la duración del proceso de extracción, el propósito del uso y el volumen final necesario. El etanol, el metanol y el agua se consideran solventes universales en la investigación fitoquímica (Ortiz Galindo, 2023).

Extracción Mecánica

Esta técnica se realiza por expresión, que consiste en ejercer presión sobre la droga y así se obtiene un jugo, en el que se encuentra disueltos los principios activos de interés, también se la puede hacer mediante cortes por los que caen los fluidos de la planta (Alcaciega Farinango & Pazmiño Salazar, 2022).

Percolación

Implica la maceración continua del material vegetal utilizando un solvente que se renueva constantemente, lo que permite la extracción completa de los principios activos hasta obtener un rendimiento significativo (Silvers Anguieta, 2012).

Método Soxhlet

Es una forma de extracción líquido-sólido donde el material vegetal molido se coloca en contacto con el solvente, y mediante la ebullición, el vapor del solvente se condensa, acumulando el producto final en un balón de destilación (Velazque Carrasco, 2019).

Extracción discontinua o simultánea

Todo el material vegetal se sumerge en el solvente hasta que los principios activos se dispersen por completo, aprovechando la diferencia de solubilidad entre el solvente y los componentes de la droga (Velazque Carrasco, 2019).

Maceración

Este método se emplea cuando se utilizan partes resistentes de la planta, como las raíces, cortezas, semillas, maderas o tallos. No se recomienda su uso si la planta contiene aceites volátiles. La maceración es un tipo de extracción en la que se trata de extraer los compuestos solubles en un líquido a partir de un material sólido, es decir, materia prima (Silvers Anguieta, 2012).

Este proceso requiere de agitaciones frecuentes para la homogeneización del procedimiento; el poder de extracción del solvente va decreciendo a medida que pasa el tiempo en contacto con el material vegetal. Para la obtención de este tipo de extractos es necesaria la seguridad del recipiente de extracción de la luz solar, evitando así, la descomposición de ciertas sustancias fotolábiles (Angulo Alcívar & Cedeño Rodríguez, 2023).

Digestión

Este método implica la aplicación de calor moderado. El solvente se añade a un recipiente junto con el material en polvo, y la mezcla se coloca sobre un baño de agua durante el procedimiento completo. Esto se hace para reducir la viscosidad del solvente y mejorar la eliminación de metabolitos secundarios. Es particularmente adecuado para materiales vegetales que se disuelven fácilmente (Ortiz Galindo, 2023).

Infusión

Este método es económico, se utiliza para extraer esencias, se separan en el percolado junto con el disolvente durante un tiempo específico. Es importante que la materia prima esté distribuida de manera uniforme en el disolvente para asegurar una penetración adecuada de la superficie. Sin embargo, este método requiere una cantidad considerable de solvente. Al terminar el proceso, se debe filtrar para eliminar la parte sólida del vegetal (Rodríguez, 2020).

Decocción

Implica hervir el material vegetal duro junto con el solvente durante un período de tiempo específico, usualmente de 15 a 30 minutos, hasta que se observe un cambio de color en el

solvente etanólico; luego se deja enfriar y se filtra (Alcaciega Farinango & Pazmiño Salazar, 2022).

2.4. Screening Fitoquímico

El screening fitoquímico de los extractos vegetales es un método rápido y rentable para identificar las principales clases de metabolitos secundarios o grupos de sustancias bioactivas presentes en una planta. Estos compuestos están asociados con actividades biológicas específicas y se detectan mediante reacciones químicas realizadas en extractos de partes específicas de la planta.

Se trata de realizar una extracción cualitativa de los grupos químicos activos presentes en una planta, lo que ayuda a dirigir el aislamiento de los grupos de interés. Los extractos resultantes se someten a reacciones cualitativas, muchas veces de coloración, para confirmar la presencia o ausencia de determinados compuestos químicos (Ordoñez Rea, 2016).

2.4.1. Ensayos para determinar los distintos grupos de metabolitos presentes en los extractos vegetales

Alcaloides: Ensayo de Dragendorff y Mayer

Los alcaloides son compuestos heterocíclicos que contienen nitrógeno básico, se caracterizan por ser insolubles en agua y por su capacidad de reaccionar con ácidos para producir sales. Para identificarlo, el alcaloide en su forma de sal (extracto ácido) se combina con los reactivos de Wagner (yodo-yoduro de potasio), Mayer (mercurio tetrayoduro de potasio) y Dragendorff (tetrayodo bismuto de potasio), así como con metales pesados como bismuto, mercurio y tungsteno. Esta combinación produce precipitados, dando resultados positivos en su detección (Ordoñez Rea, 2016).

Flavonoides: Ensayo de Shidona

Los flavonoides son metabolitos secundarios de tipo fenilpropano que se encuentran en sus fuentes naturales principalmente como O-glicósidos, aunque también pueden hallarse como agliconas o C-glicósidos. Se les atribuyen diversas propiedades beneficiosas para la salud

humana, incluyendo antioxidantes, antivirales, antiinflamatorios y anticancerígenos, así como efectos protectores capilares y venosos, diuréticos, espasmolíticos, antiinflamatorios y antibacterianos. Para identificarlos, los flavonoides con el núcleo benzopirona reaccionan con el reactivo de Shinoda, lo que produce coloraciones rojizas al agregar magnesio seguido por ácido clorhídrico concentrado a las disoluciones acuosas o alcohólicas (Ordoñez Rea, 2016).

Taninos: Ensayo de Cloruro Férrico

Los taninos son compuestos polifenólicos de origen vegetal, con estructuras que pueden ser bastante complejas, son solubles en agua y alcohol, dando lugar a soluciones con un sabor astringente. Tienen la capacidad de precipitar macromoléculas como gelatinas, celulosas y proteínas. Se clasifican en taninos hidrolizables y taninos condensados (Morales Guamán, 2020). Para identificarlos, estos pueden interactuar con el cloruro férrico para formar un complejo, lo que les permite impartir color a la muestra (Ortiz Galindo, 2023).

Saponinas: Prueba de Espuma

Las saponinas son un tipo de glucósidos que pertenecen al grupo de los glucósidos oleosos. Son solubles en agua y generan espuma al agitarse, además de tener un sabor amargo. A través de hidrólisis, tienen la capacidad de descomponer los glóbulos rojos (Morales Guamán, 2020). Sin embargo, es una prueba presuntiva puesto que la presencia de otros metabolitos de interés pueden interferir con la estabilidad de la espuma (Flor Olivo & Parra Pedraza, 2017).

Compuestos Sulfurados: Prueba de Nitroprusiato de Sodio

Tome 1 mL de extracto de prueba y añadir 0,5 mL de una solución de Nitroprusiato sódico, mezcle bien y agregue 0,5 mL de NaOH. Da positivo al presentar una coloración roja (Jaramillo Cruz, 2018).

2.5. Descripción de *Malassezia furfur*

Malassezia furfur es una levadura lipofílica que se encuentra de forma natural en la piel humana pudiendo mostrarse como patógenos oportunistas causando la caspa, foliculitis, dermatitis atópica y psoriasis (Bravo Torres et al., 2021). Como se ha señalado, forma parte de

la microbiota normal del cuero cabelludo; sin embargo, varios factores como cambios en el entorno miocutáneo o debilitamiento de los mecanismos de defensa del huésped, el estrés o la abundante producción de sebo alteran el equilibrio de la microbiota, favoreciendo el crecimiento del hongo, causando molestias y ciertos síntomas como ardor y picazón (Pomilla & Vargas, 2024).

M. furfur ha sido encontrada en pacientes con sistemas inmunitarios sanos, causando trastornos dermatológicos y también se ha reportado su habilidad para causar infecciones sistémicas en pacientes inmunocomprometidos que reciben alimentación parenteral total con suplementación lipídica como neonatos prematuros en unidades de cuidados intensivos con catéteres venosos centrales, pacientes VIH positivos y pacientes con cáncer (Galvis et al., 2017).

2.5.1. Clasificación Taxonómica

En 1996, Guillot y Guého llevaron a cabo la secuenciación de genes de grandes unidades de ARNr, realizaron investigaciones adicionales sobre ADN nuclear, y revisaron la taxonomía de 7 géneros de *Malassezia* (Gutierrez & Ortiz, 2022). La dificultad para cultivar este hongo en condiciones controladas in vitro ha demorado la identificación de su clasificación taxonómica, pero actualmente mediante características morfológicas y fisiológicas se ha logrado clasificar estas levaduras en 11 especies (Carvalho et al., 2007). La clasificación taxonómica de *M. furfur* se presenta en la Tabla 4.

Tabla 4. Taxonomía de *Malassezia furfur*.

	Nombre Científico	<i>Malassezia furfur</i>	
	Reino	Fungi	
Fuente:	División	Basidiomycota	(Pomilla
Rosales &	Clase	Exobasidiomycetes	Vargas La
Hermeza,	Orden	Malasseziales	2024)
	Familia	Amaryllidaceae	
	Género	<i>Malassezia</i>	
	Especie	<i>Malassezia furfur</i>	

2.5.2. Caracterización Morfológica, Fisiológica y Bioquímica

El género *Malassezia* se distingue de otras levaduras por sus características morfológicas, fisiológicas y bioquímicas únicas, lo que facilita su identificación en muestras clínicas. Por ejemplo, *M. furfur* presenta blastoconidios que pueden tener formas ovales, cilíndricas, globosas o subglobosas, variando según la especie. Se reproducen mediante brotación unipolar (Bravo Torres et al., 2021).

Es un microorganismo lipofílico, polimórfico y oportunista que se diferencia de otros géneros por tener una pared celular gruesa y multicapa. Por lo general, necesita ácidos grasos para crecer in vitro y sus colonias presentan colores que van desde el amarillo cremoso hasta el blanco marrón. Puede cambiar de una forma saprofita a una forma de micelio patógeno, esto bajo ciertas condiciones (Far et al., 2018).

Se puede incubar durante 7 días presentando colonias de color amarillo, opacas, lisas, umbilicadas o ligeramente plegadas con una elevación convexa de aproximadamente 5 mm. El tamaño y la forma de las células son variables con células ovales, cilíndricas o esféricas. Los brotes germinativos se forman en una base ancha y pueden formar filamentos en cualquier punto de la superficie celular (Torres et al, 2008).

2.6. Métodos para evaluar *in vitro* la actividad antimicótica

Hay varios métodos de laboratorio disponibles para analizar la susceptibilidad *in vitro* de los hongos a los agentes antimicóticos. Entre los principales métodos cualitativos para evaluar el efecto antimicótico de los extractos vegetales sobre el microorganismo en cuestión, se incluyen los métodos de difusión en disco y la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) a través de métodos de dilución. Los resultados de estos métodos se expresan mediante la medición del halo de inhibición generado por los extractos (Morales Guamán, 2020).

2.6.1. Difusión en discos

El procedimiento implica la inoculación del microorganismo en la superficie de unas placas de agar colocando discos que contienen una concentración específica del antimicótico, estas se incuban a una temperatura de 35-37°C durante un periodo de 16-18 horas. Durante este proceso, el antimicótico se difunde radialmente desde el disco a través del agar, lo que resulta en una disminución gradual de su concentración a medida que se aleja del disco. En un punto determinado, la concentración del antimicótico en el medio ya no es suficiente para inhibir el crecimiento del microorganismo en estudio (Velazque Carrasco, 2019). De acuerdo con la Tabla 5 proporcionada por entidades reguladores de estos métodos como el Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) el diámetro de la zona de inhibición que se forma alrededor del disco se clasifica como sensible (S), intermedio (I) o resistente (R).

Tabla 5. *Criterio de interpretación para un antimicrobiano "X".*

Método	Sensible (S)	Intermedio (I)	Resistente (R)
Difusión de disco (mm)	≥ 21	17 - 20	≤ 16

Fuente: (Cavaliere et al., 2005).

2.6.2. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)

Esta técnica establece la concentración mínima necesaria de un agente antimicrobiano para inhibir el crecimiento del microorganismo de interés (Morales Guamán, 2020). Algunos de

los procedimientos empleados para establecer la CMI son los métodos de dilución en agar y de dilución en caldo.

Según Velazque Carrasco, (2019) en el método de dilución en agar se siembran placas con concentraciones dobles progresivas de antibiótico junto con un control sin fármaco, utilizando diversas cepas y el método de dilución en caldo se puede llevar a cabo mediante técnicas de macrodilución o microdilución estandarizada, utilizando diluciones dobles progresivas del antibiótico. Finalmente, en los dos métodos se identifica la concentración mínima inhibitoria después de la incubación.

2.6.3. Microdilución en caldo

El método de microdilución en caldo es un procedimiento útil para determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de diversas muestras, utilizando pequeñas cantidades mediante el método de doble dilución. Para llevar a cabo este procedimiento, se utiliza una microplaca de 96 pocillos donde cada pocillo contiene el mismo microorganismo, 8 agentes antimicrobianos y 11 diluciones, la última columna de la placa se utiliza como control de crecimiento. Para evitar la evaporación del medio de cultivo durante la incubación, es necesario sellar las placas con papel adhesivo. Posteriormente, se puede observar el crecimiento del microorganismo por la turbidez en los pocillos o añadiendo bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difeníl tetrazolio (MTT), que revela la concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante un cambio de color en los pocillos de amarillo en solución a formazán, un compuesto insoluble que precipita en forma de cristales violetas (Stella Ramírez & Marín Castaño, 2009).

CAPÍTULO 3

3. Metodológico

3.1. Nivel de Investigación

El presente estudio está basado en una metodología explicativa, que permitió la evaluación de la capacidad antifúngica de los extractos etanólicos elaborados a partir de *Allium*

cepa (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) frente a *Malassezia furfur*.

3.2. Diseño de Investigación

El diseño de la investigación se consideró como experimental de corte transversal, ya que se manipuló la variable independiente como los tipos de plantas *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) utilizados para elaborar los extractos etanólicos. El objetivo fue evaluar la actividad antifúngica, que es la variable dependiente, para determinar cuál de las tres plantas presentó un efecto inhibitorio mayor.

3.3. Diseño experimental

Para determinar el efecto inhibitorio de los extractos etanólicos obtenidos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín), se planteó una estructura de una vía con un esquema de aleatorización basado en un diseño completamente al azar y una secuencialidad en registro transversal; los experimentos se replicarán 3 veces.

Variable de entrada: Tratamientos (hongo (1) + extracto (3))

Niveles: 1

Modelo: ANOVA

Unidad experimental: 9 cajas Petri (hongo + discos con extracto + controles)

Resultados: Mediante tablas y gráficas

Factor Salida: Actividad antimicótica (halos de inhibición)

Tabla 6. *Tratamientos realizados en la parte experimental.*

Tratamientos	Variable Entrada			Variable Salida Actividad Antimicótica
	E	S	H	
1	E1	Etanol	<i>M. furfur</i>	Halo de inhibición en mm
2	E2	Etanol	<i>M. furfur</i>	Halo de inhibición en mm
3	E3	Etanol	<i>M. furfur</i>	Halo de inhibición en mm
4 (CP)	Antifúngico		<i>M. furfur</i>	Halo de inhibición en mm
5 (CN)	H2O		<i>M. furfur</i>	Halo de inhibición en mm

Nota. E: Extracto, S: Solvente, H: Hongo, CP: Control Positivo y CN: Control Negativo.

Fuente: Autores.

3.4. Unidad Experimental

La unidad experimental del siguiente Proyecto de investigación se basó en el crecimiento controlado del hongo *Malassezia furfur* ATCC 14521 en medio Agar Sabouraud Dextrosa, la cual se sometió a cinco tratamientos con tres extractos *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín), un control positivo (antifúngico) y un control negativo (agua destilada estéril).

3.5. Población y Muestra

Las muestras utilizadas en este estudio de investigación provienen de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) obtenidas en el Mercado “9 de Octubre” en la ciudad de Cuenca, Ecuador. Se utilizaron 4 kg de cada planta y estas fueron seleccionadas debido a que presentan una positiva actividad frente a *Malassezia furfur*, de acuerdo con revisiones bibliográficas.

3.6. Variables

Variable dependiente: Actividad antifúngica in vitro frente a *Malassezia furfur*.

- **Indicadores: (VD)** Halo de inhibición en medios de cultivo.

Variable independiente: Extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino).

- **Indicadores: (VI)** Posibles metabolitos secundarios compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, alcaloides.

Variable Intervinientes: Las variables antes mencionadas serán controladas para evitar posibles modificaciones en los resultados obtenidos de las variables dependientes: tipos de plantas, tipos de solventes, tiempo de macerado y marcha fitoquímica.

Variables extrañas: Condiciones ambientales.

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Dentro de las técnicas de recolección de datos está el análisis documental de contenido y diagramas de flujo, a través de los cuales se hizo una consulta bibliográfica de los tres extractos etanólicos presentes en las plantas de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) que fueron empleados en esta investigación con la finalidad de obtener información sobre las propiedades antifúngicas. En el caso de la metodología se emplearon artículos científicos de bases digitales como revistas, sección de libros, documentos de tesis; y también se utilizó la técnica de observación no estructurada involucrando diarios de campo o cámaras fotográficas. Finalmente se llevaron a cabo las prácticas de comprobación en el laboratorio.

3.8. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los métodos para procesar los datos propuestos incluyen la interpretación de los resultados de las pruebas de laboratorio mediante el uso de tablas y gráficos. Una vez ordenados y procesados todos estos datos se aplican análisis estadísticos para comparar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) mediante análisis de varianza (ANOVA) para determinar cuál de estos tres extractos posee una mejor actividad antifúngica.

3.9. Protocolo Experimental

El protocolo experimental consistió en fases que comprenden desde el acondicionamiento del material para la obtención de extractos etanólicos, preparación de medios de cultivos, activación de la cepa, screening fitoquímico, difusión en agar y microdilución en caldo.

3.9.1. Acondicionamiento del material vegetal

En la Tabla 7 se especifican los materiales y equipos utilizados para el acondicionamiento del material vegetal en la obtención de extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín). Para realizar este procedimiento se intentó seguir la metodología desarrollada por Morales Guamán (2020).

Tabla 7. Materiales y equipos utilizados para el tratamiento inicial de muestras vegetales.

Materiales	Equipos
4 kg de cebolla, ajo y cebollín	Balanza analítica OHAUS PA-3102
Agua de la llave	Estufa Memmert SM-10
Agua destilada	Molino POLYMIX® PX-MFC 90 D
Vinagre 5%	
Cuchillos	
Bandejas de aluminio	
Tamiz 0.2 mm	
Bolsas herméticas	

Nota. Materiales y equipos utilizados para el tratamiento de desinfección del material vegetal en obtención de extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*.

3.9.1.1. Obtención de las muestras vegetales

Las muestras usadas fueron obtenidas del mercado “9 de Octubre” de la Ciudad de Cuenca, se usó 900 g de la planta de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium*

schoenoprasum (cebollín), se consideró estas especies debido a que Pesántez et al., (2019) menciona en su estudio que poseen mayor actividad antifúngica.

Figura 1.

Muestra vegetal de Allium cepa (cebolla).



Nota. Selección de *Allium cepa*. Fuente: Autores.

Figura 2.

Muestra vegetal de Allium sativum (ajo).



Nota. Selección de *Allium sativum*. Fuente: Autores.

Figura 3.

Muestra vegetal de Allium schoenoprasum (cebollín).



Nota. Selección de *Allium schoenoprasum*. Fuente: Autores.

3.9.1.2. Lavado y secado de las muestras vegetales

Inicialmente, las muestras vegetales se lavaron con agua directa de la llave para remover la suciedad y los restos visibles, posteriormente se enjuagaron con agua destilada para eliminar posibles contaminantes presentes y para asegurar la eliminación de microorganismos e impurezas residuales.

Las muestras lavadas y desinfectadas de la cebolla se cortan en pedazos de 3 mm de largo aproximadamente, en cambio, las muestras de ajo y cebollín se cortaron en pedazos de 2 mm. Este paso optimiza las características de las muestras, facilitando un secado más uniforme y eficiente, los pedazos se colocaron en bandejas de aluminio y se pesaron para obtener una medida precisa de la muestra antes del secado, posteriormente las bandejas se colocaron en una estufa Memmert SM-10 a una temperatura de 60°C durante 3 días por cada muestra, se siguió el protocolo de Bravo Torres et al., (2021).

Figura 4.

Pedazos de Allium cepa (cebolla).



Nota. Se pesó la muestra vegetal en una balanza analítica. Fuente: Autores.

Figura 5.

Pedazos de Allium sativum (ajo).



Nota. Se dispuso la muestra vegetal en bandejas de aluminio. Fuente: Autores.

Figura 6.

Pedazos de Allium schoenoprasum (cebollín).



Nota. Se observa la muestra vegetal después de 3 días en estufa a 70°C. Fuente: Autores.

3.9.1.3. Trituración de las muestras vegetales

Después de completar el secado, las muestras se pesaron y fueron trituradas en un molino POLYMIX® PX-MFC 90 D en pedazos aún más pequeños con un tamiz 0.2 mm (Figura 7), este paso es importante para lograr una muestra homogénea que facilite las extracciones y finalmente, se almacenaron en bolsas herméticas de plástico para preservar sus características biológicas.

Figura 7.

Proceso de molido de las muestras vegetales.



Nota. Disminución del tamaño de partícula con el objetivo de aumentar el contacto de la materia vegetal con el solvente y lograr una extracción eficaz. Fuente: Autores.

3.9.2. Preparación y obtención de extractos etanólicos

Cada muestra final obtenida del proceso de triturado se pesó obteniendo 200 g de *Allium cepa* (cebolla), 250 g de *Allium sativum* (ajo) y 150 g de *Allium schoenoprasum* (cebolín), este polvo se colocó en frascos de 1000 mL con tapa azul, previamente esterilizados y posteriormente, se añadió etanol en una proporción de 1:3. Basándose en los métodos empleados por Pesántez Domínguez et al., (2019) los frascos se cerraron y se envolvieron con papel de aluminio para protegerlos de la luz (Figura 8), dejándolos macerar durante una semana a temperatura ambiente y en oscuridad. Como se puede observar en el Anexo 1.

Figura 8.

Proceso de maceración en frío del polvo de muestras vegetales

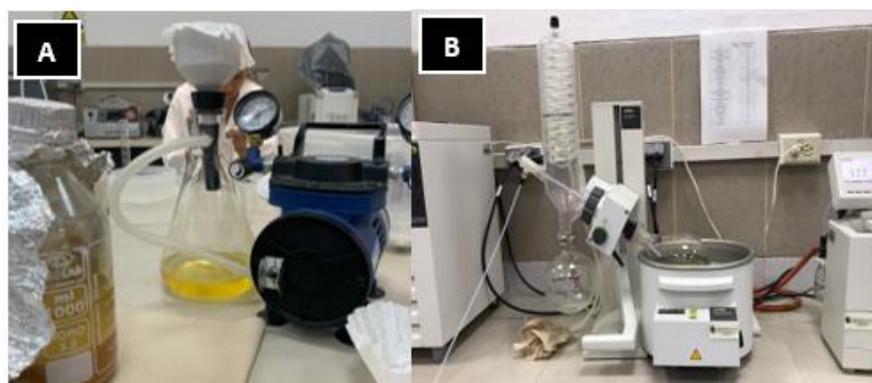


Nota. Frascos con polvo de muestra vegetal y etanol al 96% envueltos con papel aluminio listos para maceración. Fuente: Autores.

Después de una semana de maceración, los extractos se filtraron utilizando la Bomba de vacío Millipore para evitar sedimentos y se concentraron en el Rotavapor® R-100 hasta eliminar completamente el solvente (Figura 9), obteniendo así los extractos crudos para ser almacenados en frascos ámbar de 20 mL hasta su uso. Para este procedimiento se empleó la metodología descrita por Gítin et al., (2012).

Figura 9.

Proceso de filtración y concentrado de extractos.



Nota. A: Filtración de extractos mediante Bomba de vacío Millipore y B: Concentración de extractos mediante Rotavapor® R-100. Fuente: Autores.

3.9.3. Screening fitoquímico

Se realizó una caracterización cualitativa de los extractos etanólicos mediante diversas pruebas de laboratorio con el objetivo de identificar los metabolitos secundarios más importantes como alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y compuestos sulfurados. Este proceso se llevó a cabo siguiendo algunas de las técnicas descritas por Ortiz Galindo (2023), aunque con algunas adaptaciones.

Prueba para Alcaloides: Ensayo de Dragendorff

Para evidenciar la presencia de alcaloides, se colocó en un tubo de ensayo 3 gotas del extracto concentrado más tres 3 gotas del reactivo de Dragendorff, esto se dejó reaccionar. El ensayo resultaba positivo si se lograba observar un cambio de color a un precipitado de color naranja.

Prueba para Flavonoides: Ensayo de Shinoda

Para evidenciar la presencia de flavonoides, se colocó en un tubo de ensayo tres gotas del extracto más un fragmento de cinta de magnesio y se agregaron 4 gotas de HCL concentrado, esto se dejó reaccionar. El ensayo resultaba positivo si se lograba observar una coloración amarilla, naranja, rojo o verde.

Prueba para Taninos: Ensayo de cloruro férrico

Para evidenciar la presencia de taninos, se colocó en un tubo de ensayo 3 mL del extracto concentrado más 2 gotas de cloruro férrico al 10%, esto se dejó reaccionar. El ensayo resultaba positivo si se lograba observar una coloración azul o verde.

Prueba para Saponinas: Prueba de espuma

Para evidenciar la presencia de saponinas, se colocó en un tubo de ensayo 1 mL del extracto concentrado y se añade 5 mL de agua destilada, esto se agita fuerte durante un tiempo aproximado de 5 minutos. El ensayo resultaba positivo si se lograba observar una formación de espuma persistente durante 2 minutos.

Prueba para Compuestos Sulfurados: Prueba de Nitroprusiato de Sodio

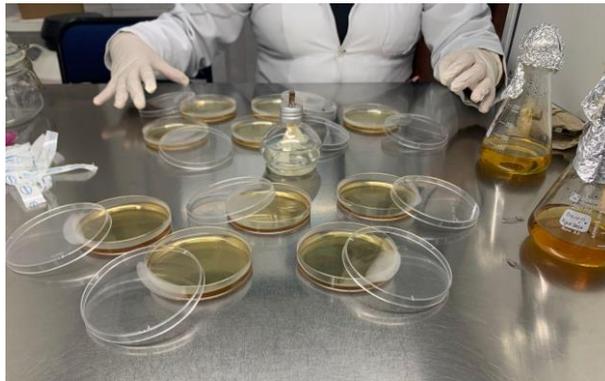
Para evidenciar la presencia de compuestos sulfurados se aplicó el ensayo de Jaramillo Cruz (2018), se colocó en un tubo de ensayo 2 mL del extracto concentrado más 0.5 mL de nitroprusiato de sodio y se agregaron 0.5 mL de hidróxido de sodio, esto se calentó en un baño de agua caliente durante 5 minutos. El ensayo resultaba positivo si se lograba observar una coloración violeta o roja.

3.9.4. Preparación de medios de cultivos

Inicialmente, se pesó 15.60 g de Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) para 12 cajas petri y se disolvió en 250 mL de agua destilada dentro de un matraz Erlenmeyer de 1000 mL, posteriormente se calentó con agitación constante hasta alcanzar una ligera ebullición. También, se pesó 1.5 g de Caldo Sabouraud para 5 tubos de ensayo, de igual forma se disolvió en 50 mL de agua destilada dentro de un matraz Erlenmeyer de 1000 mL y se distribuyó 10 mL en cada tubo de ensayo, posteriormente se esterilizaron todos los preparados colocados con la cinta verificadora de esterilización a 121°C durante 15 minutos en autoclave. Finalmente, dentro de la cámara de flujo laminar se vertió el Agar Sabouraud Dextrosa en placas Petri de vidrio previamente esterilizadas (Figura 10) para almacenarlas en refrigeración hasta su uso. Este proceso siguió en gran medida la metodología de Bravo Torres et al., (2021).

Figura 10.

Medio SDA en placas petri de vidrio estériles.



Fuente: Autores.

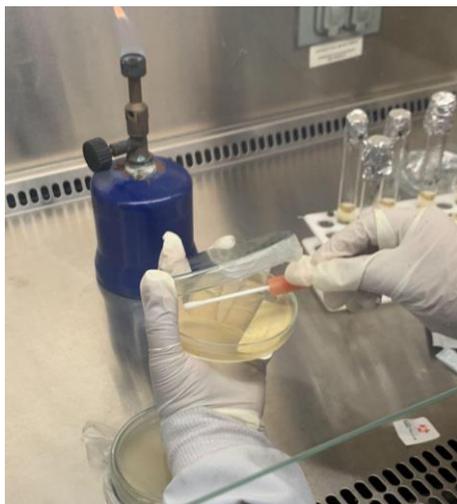
3.9.5. Activación de la cepa *Malassezia furfur* ATCC 14521

Para la activación se utilizó una cepa de *Malassezia furfur* ATCC 14521 proporcionada por los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, sede Cuenca. El procedimiento se llevó a cabo siguiendo las instrucciones descritas en el catálogo de la empresa proveedora.

Se utilizó la técnica de siembra masiva (Ministerio de Salud de Neuquén, 2021) para inocular 3 placas Petri que contenían medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa (Figura 11) y 3 tubos de ensayo que contenían caldo Sabouraud, posteriormente, las cajas y los tubos se colocaron en incubación a 30°C durante 7 días para promover el crecimiento óptimo de *Malassezia furfur*. Después del período de incubación, se subcultivaron colonias en nuevas placas Petri con medio fresco, listas para el proceso experimental.

Figura 11.

Inoculación de Malassezia furfur ATCC 14521 en placa Petri..



Fuente: Autores.

3.9.6. Método de difusión en Agar de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*

El método de difusión en agar consiste en exponer al hongo a los distintos extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín), a un antifúngico comercial como control positivo y a un control negativo. Este procedimiento se realizó bajo la metodología descrita por Cavalieri et al., (2019) con algunas modificaciones incluyendo selección de colonias, preparación de una suspensión del inóculo, estandarización de la suspensión, inoculación de placas de agar, colocación de discos impregnados con los extractos y el antifúngico, incubación de las placas, medición de las zonas de inhibición y finalmente, interpretación de los resultados obtenidos.

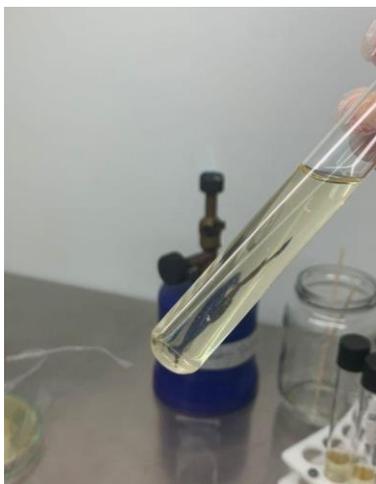
3.9.6.1. Preparación del inóculo fúngico

Siguiendo la metodología empleada por Bravo Torres et al., (2021), se tomaron entre 4 a 5 colonias de un cultivo de *Malassezia furfur* ATCC 14521 incubado durante 7 días a 30°C, se inocularon en caldo de Sabouraud (Figura 12) y se mezcló mediante un vortex durante 3 minutos. Para este inóculo se tenía que ajustar una concentración equivalente al estándar de 0,5

McFarland ($1-5 \times 10^6$ UFC/mL), y también se utilizó espectrofotómetro visible GENESYS™ 20 a una longitud de onda de 600 nm.

Figura 12.

Inóculo fúngico en caldo Sabouraud.



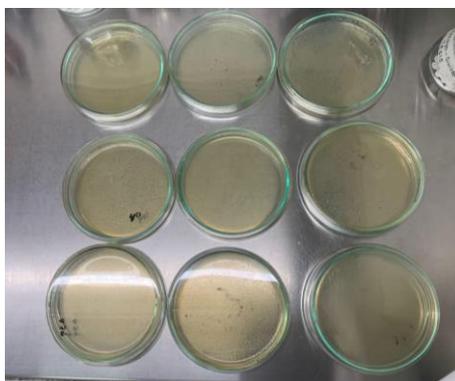
Fuente: Autores.

3.9.6.2. Siembra del inóculo en Agar Sabouraud Dextrosa

Con el inóculo estandarizado, se procedió a realizar la siembra en cajas Petri estériles que contienen Agar Sabouraud Dextrosa (Figura 13), este proceso se realizó con la dispersión del inóculo de manera uniforme para conseguir un crecimiento adecuado del hongo.

Figura 13.

Inoculación de cajas Petri.



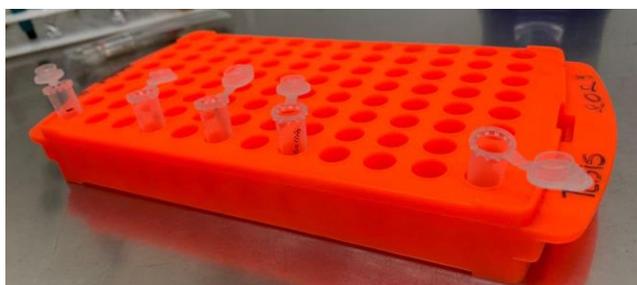
Nota. Esta figura muestra las cajas Petri con Agar Sabouraud Dextrosa que fueron inoculadas para ser usadas en el método de difusión en agar. Fuente: Autores.

3.9.6.3. Procedimiento para preparación de discos

Los discos en blanco fueron sumergidos en los extractos etanólicos concentrados de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín), así como en los controles positivo y negativos, durante 2 minutos para lograr una mejor absorción (Figura 14). Para el control positivo se utilizó un disco impregnado con un solución de Ketoconazol, según lo realizado por Galvis-Marín et al., (2017) utilizó 16 mg de antifúngico en polvo en 10 mL de dimetilsulfóxido (DMSO) y para el control negativo se utilizó agua destilada estéril.

Figura 14.

Discos sumergidos en extractos etanólicos, control positivo y control negativo.



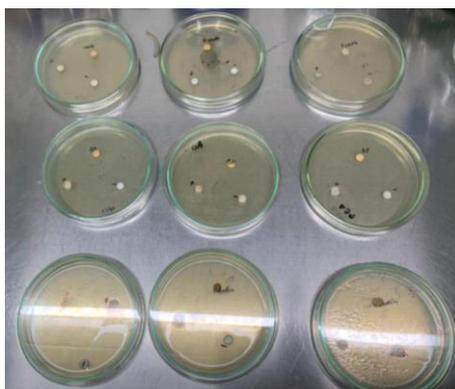
Nota. Lado izquierdo: Control Negativo (CN), Extracto de *Allium cepa* (E1), Extracto de *Allium sativum* (E2), Extracto de *Allium schoenoprasum* (E3) y Control Positivo (CP). Fuente: Autores.

3.9.6.4. Difusión de discos de extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*

Una vez preparado los discos, estos se ubicaron en las cajas Petri realizando una ligera presión sobre la superficie del agar, específicamente se colocaron 3 discos por caja (Figura 15) con la ayuda de pinzas previamente esterilizadas; un disco correspondiente al extracto, otro para el control positivo y otro para el control negativo a una distancia considerable evitando que se de una superposición de los halos a formar. Este procedimiento se realizó de manera inmediata tras la inoculación de las placas para asegurar que la difusión y el crecimiento ocurran de manera simultánea, posteriormente, se colocaron las cajas Petri con los discos correspondientes en incubación durante 7 días a 30°C. Pasado el tiempo de incubación se procedió a examinar cada caja para medir el diámetro de los halos de inhibición y reportar los resultados.

Figura 15.

Difusión de discos en las respectivas cajas Petri.



Nota. Se impregnó los discos contenidos de extractos y sus controles en las cajas petri.

Fuente: Autores.

3.9.7. Método de microdilución en caldo de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*

La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) se emplea para determinar la menor concentración de cada extracto que inhibe el crecimiento del microorganismo analizado, en este caso de *Malassezia furfur* ATCC 14521. Para realizar este procedimiento se siguió en parte la metodología descrita por Galvis-Marín et al., (2017) y por Ruiz Quiroz (2013), se utilizó una microplaca estéril con 96 pocillos en la cual se agregaron los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín) a concentraciones en un rango de 16 a 0,03125 uL/mL. En cada pocillo con capacidad de hasta 200 uL se añadió caldo Sabouraud, inóculo, extracto y antifúngico (Ketoconazol).

3.9.7.1. Preparación del inóculo fúngico

Para la preparación del inóculo se siguió el mismo procedimiento detallado en el apartado 3.9.6.1 ajustando una concentración equivalente de 0.5 McFarland.

3.9.7.2. Preparación de las muestras de extractos para las pruebas de microdilución

A partir de cada extracto etanólico concentrado de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín) se preparó una dilución utilizando agua destilada estéril

como diluyente para obtener una concentración, que están en el rango de 16 a 0,03125 uL/mL, estos valores se reportan en un estudio realizado por Shams-Ghahfarokhi et al., (2006).

3.9.7.3. Preparación de los controles para las pruebas de microdilución

Para el control positivo se utilizó el antifúngico (Ketoconazol) en cápsula de 200 mg, y de acuerdo con la metodología descrita por Galvis-Marín et al., (2017), sin embargo, para la microdilución se requería una concentración de 8 uL/mL, por lo que se realizó una dilución adicional con dimetilsulfóxido (DMSO).

3.9.7.4. Procedimiento de la prueba de microdilución

La prueba de microdilución fue realizada en microplacas de 96 pocillos estériles con fondo plano, con ocho filas (A-H) y doce columnas (1-12); de manera general la distribución del contenido para cada pocillo está basado en el procedimiento descrito por CLSI (2012). En los pocillos correspondientes a las muestras de extractos (A2-A11, B2-B11, C2-C11, D2-D11, E2-E11, F2-F11) y al antifúngico (G2-G11), se colocan 100 uL de Caldo Sabouraud, posteriormente, se realizan diluciones seriadas al medio de los extractos y el antifúngico (ketoconazol), por último, en todos los pocillos detallados se colocan 100 uL de inóculo en concentración 0.5 McFarland. Por otro lado, en los pocillos (A1-G1) se colocan solo 200 uL de Caldo Sabouraud, sirviendo estos como control de esterilidad (CE) y en los pocillos (A12- G12) se colocan 100 uL de Caldo Sabouraud más 100 uL de inóculo, sirviendo estos pocillos como control de crecimiento (CC). Finalmente, se obtienen 200 uL en todos los pocillos.

Figura 16.

Diseño de la bandeja de microdilución.

	↓	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03	I↓	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
A	CE	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	CC	E1
B	CE	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	CC	E1
C	CE	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	CC	E2
D	CE	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	CC	E2
E	CE	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	CC	E3
F	CE	200	200	200	200	200	200	200	200	200	200	CC	E3
G	CE	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03	0,01	CC	

K→

Nota. E1: *Allium cepa*, E2: *Allium sativum*, E3: *Allium schoenoprasum*, K: Ketoconazol, CE: Control de Esterilidad y CC: Control de Crecimiento. Fuente: Autores.

Finalmente, se incubó a 33°C durante 24 h (Figura 17), pasado este tiempo se realizó una lectura visual de la microplaca y la CMI se pudo definir a partir de la suspensión que presentó una reducción significativa en la turbidez del crecimiento en comparación con el control de crecimiento (caldo + inóculo).

Figura 17.

Microplaca de fondo plano con 96 pocillos utilizada para microdilución en caldo.

Nota. Microplaca sellada con papel adhesivo para ser incubada a 33°C. Fuente: Autores.



3.9.7.5. Procedimiento del Ensayo colorimétrico bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difenil tetrazolio (MTT)

Transcurrido 48 h se midió la absorbancia en un lector de placas a 600 nm. Posteriormente para el ensayo colorimétrico, se preparó una solución de 9 mg de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5,-difenil tetrazolio (MTT) en 15 mL de Triptón. Luego se aplicó 20 uL de

(MTT) sobre todos los pocillos volviendo a incubar por 1 hora para la revelación de la CMI, la misma que se determina con el cambio de color a morado intenso (REFERENCIAR)

3.9.8. Comparación de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*

Para evaluar la significancia estadística de la inhibición entre los extractos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín) se llevó a cabo un diseño completamente al azar mediante el programa estadístico R Studio, para determinar si los datos obtenidos seguían una distribución normal se realizó la prueba de Shapiro-Wilk.

CAPÍTULO 4

4. Resultados y Discusión

4.1. Obtención de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum*

Una vez finalizado el proceso de tratamiento de materia prima inicial para cada planta, se obtuvo 230 g de *Allium cepa* (cebolla), 260 g de *Allium sativum* (ajo) y 200 g para *Allium schoenoprasum* (cebollín) de polvo pulverizado. Se obtuvieron 3 extractos etanólicos por maceración en frío del polvo utilizando como solvente etanol al 96%. A continuación, en la Tabla 8 se detallan las cantidades utilizadas en el proceso de obtención de los extractos etanólicos.

Tabla 8. Resultados obtenidos de los extractos etanólicos.

Extractos Etanólicos	Materia Prima Pulverizada	Volumen Inicial Extracto	Volumen Final Filtrado	Volumen Concentrado de Extracto
<i>Allium cepa</i>	230 g	700 mL	400 mL	20 mL
<i>Allium sativum</i>	260 g	800 mL	500 mL	10 mL
<i>Allium schoenoprasum</i>	200 g	600 mL	250 mL	14 mL

Fuente: Autores.

Según Loría Gutiérrez et al., (2021) la maceración es el método más común empleado para extraer componentes de *Allium sativum* (ajo). Este proceso puede variar según la cantidad de material vegetal utilizado y la concentración del extracto deseada, no obstante, todos los métodos de maceración comparten el uso de un disolvente de extracción que puede ser agua (extracto acuoso), alcohol (extracto etanólico) o una mezcla de ambos (extracto hidroalcohólico).

El estudio realizado por Pesántez et al., (2019) utilizó hojas y bulbos de *Allium schoenoprasum* (cebollín) para preparar extractos mediante el método de maceración durante 7 días, empleando 500 g de muestra en 1 L de etanol al 80% en recipientes herméticamente cerrados y protegidos de la luz. El análisis de las características físico-químicas de los extractos, permitió determinar sus parámetros de calidad, los cuales se consideraron aceptables para ambos extractos y estuvieron dentro de los rangos establecidos para la mayoría de los extractos vegetales.

4.2. Identificación de metabolitos secundarios presentes en los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* mediante screening fitoquímico

El screening fitoquímico se llevó a cabo con la finalidad de identificar cualitativamente los grupos químicos presentes en los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín) mediante pruebas colorimétricas que determinan la presencia o ausencia de metabolitos secundarios. En la Tabla 9 se presentan los resultados obtenidos para cada metabolito secundario evaluado en cada uno de los extractos etanólicos.

Tabla 9. Resultados del screening fitoquímico de los extractos etanólicos.

Metabolito Secundario	Extracto <i>Allium cepa</i> (cebolla)	Extracto <i>Allium sativum</i> (ajo)	Extracto <i>Allium schoenoprasum</i> (cebolín)	Nota. (+)
Alcaloides	+	+	+	
Flavonoides	+	+	+	
Taninos	+	-	+	
Saponinas	-	-	+	
Compuestos Sulfurados	+	+	+	

positivo y (-) negativo. Fuente: Autores.

En el extracto etanólico de *Allium cepa* (cebolla) se comprobó la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos y compuestos sulfurados. Estos resultados tienen relación con la investigación dada por Guillamón (2018), en el cual la cebolla es considerada como una fuente de flavonoides y compuestos sulfurados. Según Kurnia et al., (2021) a partir de algunos métodos de aislamiento se comprobó que las hojas de *Allium cepa* (cebolla) contienen pigmentos fenólicos, taninos, carotenoides, saponinas y glutatión. En un estudio de investigación sobre propiedades antioxidantes de *Allium cepa* llevado a cabo por Stajner & Ilona Szöllôsi Varga (2003), se obtuvieron resultados con respecto al contenido de flavonoides con un total de 496,53 mg/g. De igual manera Najeebullah et al., (2021) en su investigación revela que *Allium cepa* tiene una amplia variedad de flavonoides, alcaloides, saponinas y varios compuestos de los aminoácidos que contienen azufre como la cisteína.

En el extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo) se comprobó la presencia de alcaloides, flavonoides y compuestos sulfurados. Una revisión dada por Loría Gutiérrez et al., (2021) afirma que el bulbo del ajo contiene una variedad de compuestos azufrados como ajoeno y alicina, aminoácidos sulfurados, alcaloides, saponinas y carbohidratos. Los resultados del estudio de Stajner & Ilona Szöllôsi Varga (2003), indicaron que en algunos de los *Allium* cultivados como *Allium sativum*, el contenido de flavonoides y carotenoides fue alto, lo que contribuyó a sus

capacidades antioxidantes. Otro estudio realizado por Moctezuma Zárte et al., (2016) menciona que ciertos efectos antifúngicos son por la acción de la alicina que ha manifestado ser activa in vitro contra hongos y levaduras patógenos para el humano.

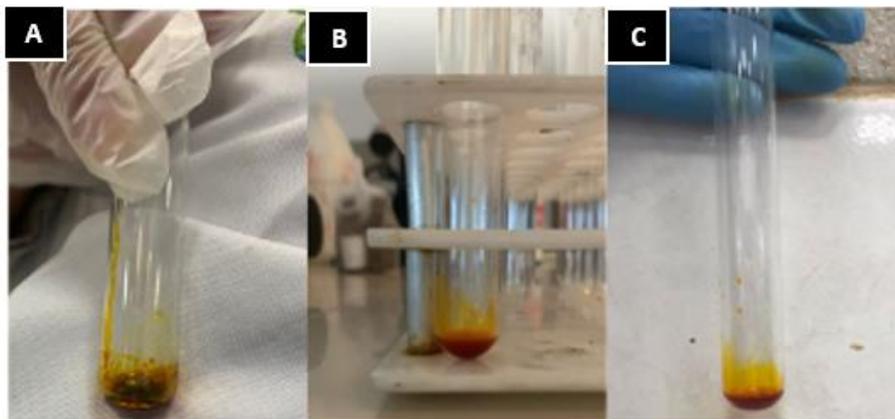
En el extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* (cebollín) se comprobó la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas y compuestos sulfurados. Estos resultados presentan cierta diferencia con el estudio realizado por Pesantes et al., (2017) ya que se evidencia que no hay presencia de alcaloides en este tipo de extracto, pero si dieron respuesta positiva a flavonoides y saponinas. Así mismo, el estudio llevado a cabo por Pesántez et al., (2019) afirma que los metabolitos secundarios detectados en los extractos de *Allium schoenoprasum* a través del tamizaje fitoquímico coinciden con los presentes en la planta, destacando la notable presencia de flavonoides y compuestos fenólicos, observados con una mayor concentración en las hojas, que se evidencia por la intensidad de coloración en las reacciones.

En los extractos de *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo) no se detectó presencia de espuma, presentando diferencias con la información bibliográfica revisada. Según Flor Olivo & Parra Pedraza (2017), la prueba de espuma es presuntiva y la presencia de otros metabolitos de interés puede interferir con su estabilidad, esto podría explicar el motivo por el que se evidenció presencia de espuma solo en el extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín).

Según Guillamón (2018) y Najeebullah et al., (2021), los compuestos organosulfurados (OSC) son los principales metabolitos secundarios en las plantas del género *Allium*, y son responsables de su característico olor y sabor, así como de muchas de sus propiedades bioactivas. Además, este autor señala que las plantas del género *Allium* son ricas también en minerales, aminoácidos esenciales, fibra, vitaminas, flavonoides y compuestos fenólicos.

Figura 18.

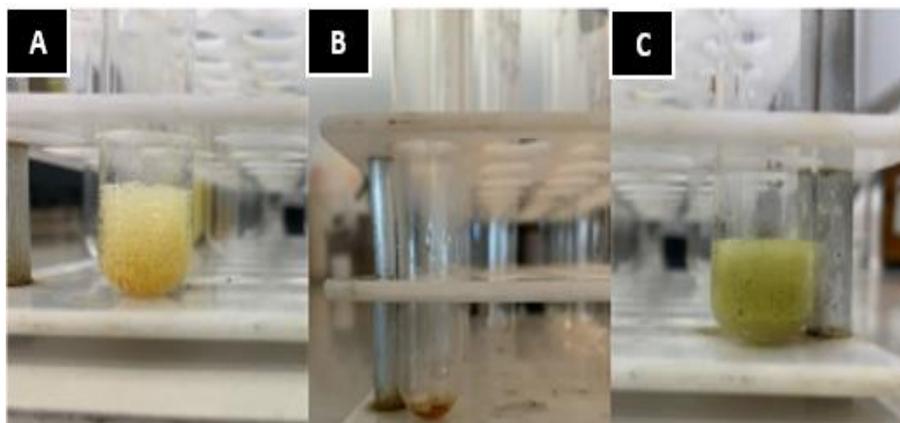
Ensayos de Dragendorff en los extractos vegetales.



Nota. A: Extracto de *Allium cepa* (cebolla), B: Extracto de *Allium sativum* (ajo) y C: Extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín). Fuente: Autores.

Figura 19.

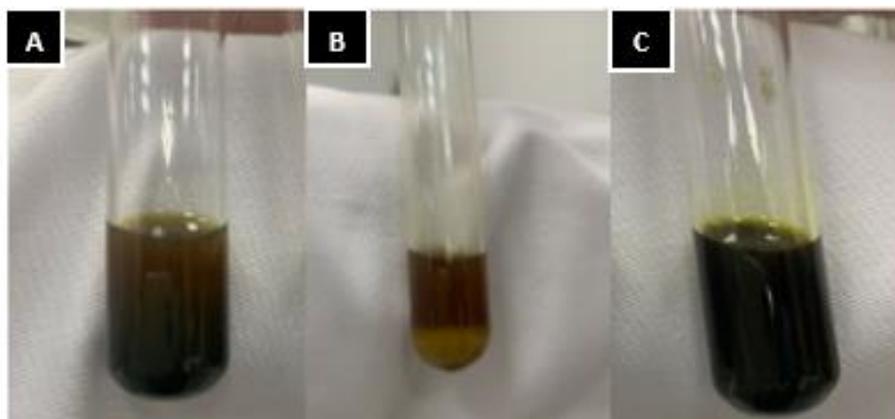
Ensayos de Shinoda en los extractos vegetales.



Nota. A: Extracto de *Allium cepa* (cebolla), B: Extracto de *Allium sativum* (ajo) y C: Extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín). Fuente: Autores.

Figura 20.

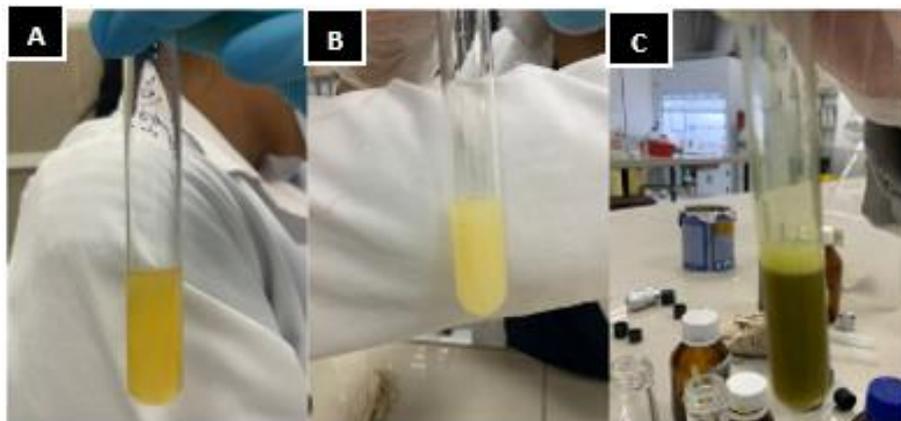
Ensayos de Taninos en los extractos vegetales.



Nota. A: Extracto de *Allium cepa* (cebolla), B: Extracto de *Allium sativum* (ajo) y C: Extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín). Fuente: Autores.

Figura 21.

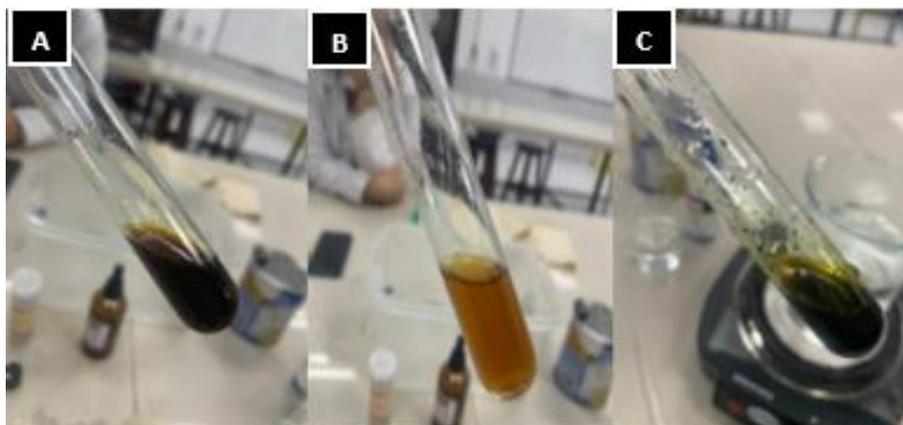
Ensayos de Saponinas en los extractos vegetales.



Nota. A: Extracto de *Allium cepa* (cebolla), B: Extracto de *Allium sativum* (ajo) y C: Extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín). Fuente: Autores.

Figura 22.

Ensayos de Compuestos Sulfurados en los extractos vegetales.



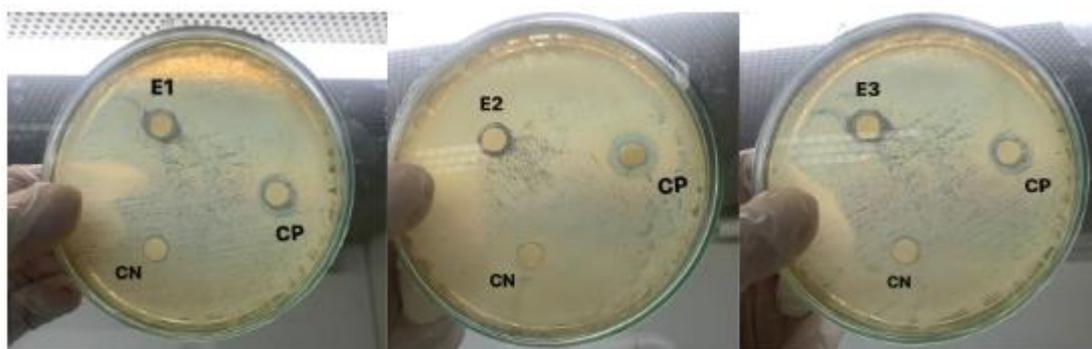
Nota. A: Extracto de *Allium cepa* (cebolla), B: Extracto de *Allium sativum* (ajo) y C: Extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín). Fuente: Autores.

4.3. Evaluación de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* mediante el método de difusión en agar

La medición de los halos de inhibición (Figura 23) se realizó después de 7 días de incubación a 30°C.

Figura 23.

Cajas Petri con halos de inhibición.



Nota. E1: *Allium cepa*, E2: *Allium sativum*, E3: *Allium schoenoprasum*, CP (Control Positivo): Ketoconazol, CN (Control Negativo): Agua destilada estéril. Fuente: Autores.

Tabla 10. Actividad antifúngica de extractos etanólicos, control positivo y control negativo frente a *Malassezia furfur*.

Extractos Etanólicos	N° Placas	Promedio Halo de Inhibición	Control +	Control -
<i>Allium cepa</i> (cebolla)	3	10.33 mm	20 mm	0 mm
<i>Allium sativum</i> (ajo)	3	12.33 mm	22 mm	0 mm
<i>Allium schoenoprasum</i> (cebolín)	3	10 mm	20 mm	0 mm

Fuente: Autores.

En la Tabla 10 se puede evidenciar que el extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo) genera mayores halos de inhibición con un promedio de 12.33 mm, el extracto etanólico de *Allium cepa* (cebolla) generó halos de inhibición con un promedio de 10.33 mm y el extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* (cebolín) generó halos de inhibición con un promedio de 10 mm. Con estos resultados podemos observar que, el extracto etanólico de *Allium sativum* (ajo) presenta mayor promedio de inhibición frente a *Malassezia furfur* ATCC 14521.

El estudio de la actividad antifúngica de los extractos de plantas de *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo) llevado a cabo por Shams-Ghahfarokhi (2006), mostraron actividades antifúngicas contra todos los hongos probados de manera dependiente de la dosis con un máximo del 100% a altas concentraciones definidas. La actividad del extracto de ajo contra *Malassezia furfur* fue mucho mayor que la del extracto de cebolla.

Una investigación realizada por Diah (2018), demuestra que el extracto de bulbos de ajo tiene un efecto inhibitor mayor que el extracto de la piel de ajo sobre el crecimiento de *Malassezia furfur*. Esto se evidencia en la zona de inhibición promedio, en el extracto de bulbos de ajo es de 9.44 mm y en el extracto de piel de ajo es de 8.11 mm. Ambos extractos de *Allium*

sativum (ajo) muestran propiedades antifúngicas, lo que significa que inhiben el crecimiento del hongo.

En un estudio realizado por Lora Cahuas et al., (2010) revela que a medida que aumenta la concentración de *Allium sativum* mayor diámetro de inhibición en el crecimiento en dermatofitos.

4.4. Determinación de la CMI de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* mediante el método de microdilución en caldo

Para la evaluación de la CMI de los extractos etanólicos frente al hongo *Malassezia furfur* ATCC 14521 por duplicado a diferentes concentraciones en un rango de 16 a 0,03125 $\mu\text{L}/\text{mL}$ para cada tratamiento. Los valores se determinaron utilizando una solución de bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT) para revelar la microplaca y su posterior incubación durante 1 hora, la intensidad del color es proporcional a la cantidad de crecimiento microbiano, menos crecimiento resulta en un color más débil.

En un estudio realizado por Ruiz Quiroz (2013), revela que al manipular extractos de plantas, existe una dificultad que el color o la precipitación puedan enmascarar el crecimiento del microorganismo; por lo que es importante hacer modificaciones en los métodos, para lo cual en nuestro trabajo experimental se realizó una lectura colorimétrica y se cuantificó mediante absorbancia (espectrofotometría).

Se observa cambio de color en los pocillos de la microplaca (Figura 26); en las filas A-B que corresponden al extracto de *Allium cepa* (cebolla) se evidenció cambio de color más débil en las microdiluciones 2 y 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$, siendo las mejores concentraciones mínimas inhibitorias. En las filas C-D que corresponden al extracto de *Allium sativum* (ajo) se evidenció cambio de color más débil en las microdiluciones 2, 1, 0.25, 0.13 y 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$, siendo las mejores concentraciones mínimas inhibitorias. En las filas E-F que corresponden al extracto de *Allium schoenoprasum* (cebollín) no se evidenció una diferencia significativa en el cambio de color en las microdiluciones. En los pocillos de la fila G que corresponden al antifúngico se evidenció un

cambio de color más débil desde la columna 2 hasta la columna 5 en microdiluciones 8, 4, 2, a 1 uL/mL, siendo las mejores concentraciones mínimas inhibitorias.

Figura 24.

Ensayo colorimétrico en microplaca con bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolio (MTT).



Fuente: Autores.

4.5. Comparación de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* mediante análisis estadístico

Para determinar el efecto inhibitorio de los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín) frente a *Malassezia furfur*, se realizó el análisis estadístico que se detalla a continuación:

Tabla 11. Resultados obtenidos del efecto inhibitorio de los extractos etanólicos y control (+) frente a *Malassezia furfur*.

Descripción	Tratamientos	Halo de Inhibición (mm) [Datos Originales]	Halo de Inhibición (mm) [Datos Transformados]
<i>Allium cepa</i>	t1	10	0.01
	t1	10	0.01
<i>Allium sativum</i>	t1	11	0.0083
	t2	12	0.0069
	t2	13	0.0059
	t2	12	0.0069
	t3	12	0.0083
<i>Allium schoenoprasum</i>	t3	11	0.0123
	t3	9	0.01
Control (+)	t4	20	0.0025
	t4	22	0.0021
	t4	20	0.0025

Fuente: Autores.

Los datos no presentaron una distribución normal, los mismos fueron evaluados mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Tabla 12) y el gráfico Cuartil-Cuartil (Figura 25).

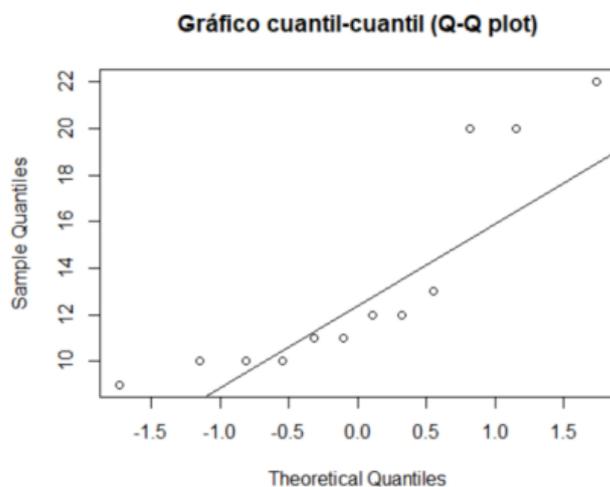
Tabla 12. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk.

Prueba Shapiro-Wilk (distribución normal)		
Data	w	p-value
Halos de Inhibición	0.77695	0.005185

Fuente: Autores.

Figura 25.

Cuartil - Cuartil (Q-Q plot)



Nota. Se puede observar que los datos no siguen una distribución normal. Fuente: Autores.

Por lo cual, se procedió a realizar la transformación de potencia Box – Cox. Los datos se elevaron a la potencia -2, considerando el valor de máxima longverisimilitud $\lambda = -2$. Los resultados de la mencionada transformación se encuentran en la Tabla 11. Es importante mencionar que en adelante el análisis estadístico se realizó considerando los datos transformados.

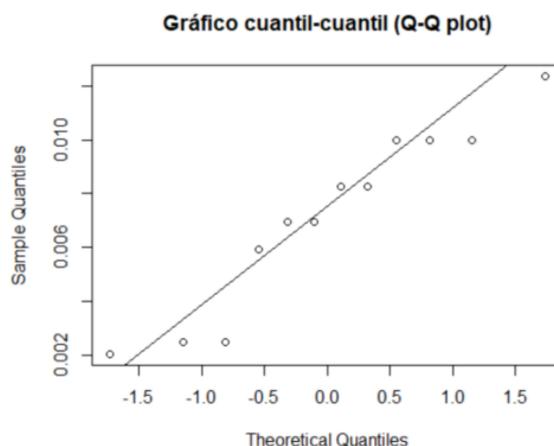
Tabla 13. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos transformados.

Prueba Shapiro-Wilk (distribución normal)		
Data	w	p-value
Halos de Inhibición	0.91782	0.2684

Fuente: Autores

Figura 26.

Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos transformados.



Nota. Se puede observar que los datos siguen una distribución normal. Fuente: Autores.

Tabla 14. Análisis de varianza (ANOVA) de datos transformados.

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Tratamiento	3	1.133e-04	3.777e-05	26.91	0.000157
Error	8	1.123e-05	1.400e-06		

Fuente: Autores.

Tabla 15. Supuestos del modelo ANOVA.

Independencia	Normalidad	Homogeneidad de Varianzas
Prueba de Durbin-Watson DW = 3.138 valor P = 0.1341	Prueba de Shapiro-Wilk W = 0,94571 valor P = 0,5754	Prueba de Levene valor P = 0,3779

Fuente: Autores.

En la Tabla 16 para una mejor comprensión de los resultados se hará referencia a los datos originales, en tal sentido, el promedio del efecto inhibitorio de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* y Control (+) frente a *Malassezia furfur*, los mismos fueron 10.33, 12.33, 10,00, y 20.66 mm, respectivamente. En la Tabla 14 el Anova

mostró diferencia significativa entre los tratamientos. En la Tabla 15 no se presentaron desviaciones severas a los supuestos del modelo Anova en independencia, normalidad y homogeneidad de varianzas. El t4 (Control +) logró el mayor halo de inhibición, entre los tratamientos etanólicos destaca el t2 (*Allium sativum*) ya que obtuvo 1.19 y 1.23 veces mayor halo de inhibición en comparación con el t1 (*Allium cepa*) y t3 (*Allium schoenoprasum*), respectivamente.

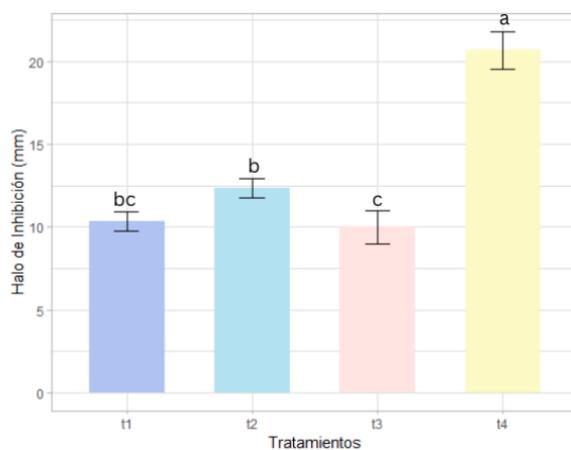
Tabla 16. Efecto inhibitorio de extractos etanólicos y control (+) frente a *Malassezia furfur*.

Descripción	Tratam	n	Halo de Inhibición (mm) [Datos Transformados]	Halo de Inhibición (mm) [Datos Originales]	Grupos
<i>Allium cepa</i>	t1	3	0.0094 ± 0.001	10.33 ± 0.57	bc
<i>Allium sativum</i>	t2	3	0.0066 ± 0.0005	12.33 ± 0.57	b
<i>Allium schoenoprasum</i>	t3	3	0.0102 ± 0.0020	10.00 ± 1.00	c
Control (+)	t4	3	0.0023 ± 0.0002	20.66 ± 1.15	a

Nota. Los resultados son expresados como promedio del halo de inhibición (mm) ± DS, n = 3. Tratamientos con una letra en común no difieren significativamente al 5%, de acuerdo con la prueba DSH de Tukey. Fuente: Autores.

Figura 27.

Efecto inhibitorio de los extractos etanólicos y control (+) frente a Malassezia furfur.



Nota. El extracto de *Allium sativum* presenta mayor promedio de halo de inhibición frente a *Malassezia furfur*, en comparación con *Allium cepa* y *Allium schoenoprasum*. Fuente: Autores.

Para establecer la capacidad mínima inhibitoria de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*, se realizaron análisis estadísticos que se detallan a continuación:

Capacidad Mínima Inhibitoria del extracto etanólico de *Allium cepa*.

Los datos considerados fueron:

Tabla 17. Resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium cepa* frente a *Malassezia furfur*

	Microdilución	Tratamientos	Inhibición (ng/dL)	
	16	t1	0.303	
	16	t1	0.279	
	8	t2	0.363	
	8	t2	0.326	
	4	t3	0.432	
	4	t3	0.312	
	2	t4	0.525	
	2	t4	0.475	
	1	t5	0.458	
	1	t5	0.458	
	0.5	t6	0.403	
	0.5	t6	0.373	
Fuente:	0.25	t7	0.49	Autores.
Los	0.25	t7	0.511	datos
presentaron	0.13	t8	0.451	una
distribución	0.13	t8	0.441	normal,
los mismos	0.06	t9	0.48	fueron
evaluados	0.06	t9	0.466	
mediante la	0.03	t10	0.403	prueba
de Shapiro-	0.03	t10	0.333	Wilk
(Tabla 18) y				el gráfico
Cuartil-Cuartil (Figura 28).				

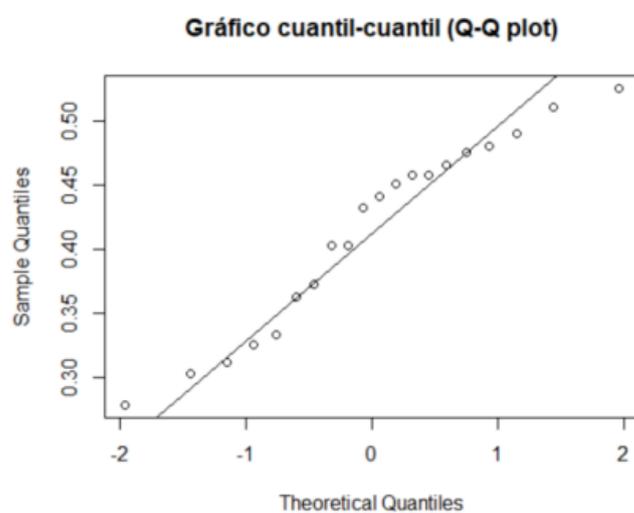
Tabla 18. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos en *Allium cepa*.

Prueba Shapiro-Wilk (distribución normal)		
Data	w	p-value
Halos de Inhibición	0.94097	0.2501

Fuente: Autores.

Figura 28.

Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos en *Allium cepa*.



Nota. Se puede observar que los datos siguen una distribución normal. Fuente: Autores.

Tabla 19. Análisis de varianza (ANOVA) de datos en *Allium cepa*.

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Tratamiento	9	0.09167	0.010185	8.026	0.000157
Error	10	0.01269	0.001269		

Fuente: Autores.

Tabla 20. *Supuestos del modelo ANOVA.*

Independencia	Normalidad
Prueba de Durbin-Watson DW = 3.3495 valor P = 0.1264	Prueba de Shapiro-Wilk W = 0.98197 valor P = 0.9569

Fuente: Autores.

En la Tabla 21 se observó el promedio concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium cepa* frente a *Malassezia furfur*, los mismos que fueron: 0.29, 0.34, 0.37, 0.50, 0.45, 0.38, 0.50, 0.44, 0.47 y 0.36 ng/dL de acuerdo a la microdiluciones 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.13, 0.06, y 0.03 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente. En la Tabla 19 el Anova mostró diferencia significativa entre los tratamientos. En la Tabla 20 no se presentaron desviaciones severas a los supuestos del modelo Anova en independencia y normalidad. Las microdiluciones 2 y 0.25 $\mu\text{L}/\text{mL}$ presentaron las mejores concentraciones mínimas inhibitorias ambas con 0.50 ng/dL.

Tabla 21. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium cepa* frente a *Malassezia furfur*.

Microdilución	Tratamientos	n	Inhibición (ng/dL)	Grupos
16	t1	2	0.29 ± 0.016	c
8	t2	2	0.344 ± 0.026	bc
4	t3	2	0.37 ± 0.084	abc
2	t4	2	0.50 ± 0.035	a
1	t5	2	0.45 ± 0.000	ab
0.5	t6	2	0.38 ± 0.021	abc
0.25	t7	2	0.50 ± 0.014	a
0.13	t8	2	0.44 ± 0.007	ab
0.06	t9	2	0.47 ± 0.009	ab
0.03	t10	2	0.36 ± 0.049	abc

Nota. Los resultados son expresados como promedio del halo de inhibición (mm) ± DS, n = 3.

Tratamientos con una letra en común no difieren significativamente al 5%, de acuerdo con la prueba DSH de Tukey. Fuente: Autores.

Capacidad Mínima Inhibitoria del extracto etanólico de *Allium sativum*.

Los datos considerados fueron:

Tabla 22. Resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium sativum* frente a *Malassezia furfur*.

Microdilución	Tratamientos	Inhibición (ng/dL)	
16	t1	0.384	
16	t1	0.387	
8	t2	0.373	
8	t2	0.402	
4	t3	0.396	
4	t3	0.409	
2	t4	0.501	
2	t4	0.483	
1	t5	0.514	
1	t5	0.421	
0.5	t6	0.394	
0.5	t6	0.435	
0.25	t7	0.454	
0.25	t7	0.509	
0.13	t8	0.464	
0.13	t8	0.488	
0.06	t9	0.472	
0.06	t9	0.482	
0.03	t10	0.344	
Fuente: 0.03	t10	0.361	Autores.

Los datos presentaron una distribución normal, los mismos fueron evaluados mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Tabla 23) y el gráfico Cuartil-Cuartil (Figura 29).

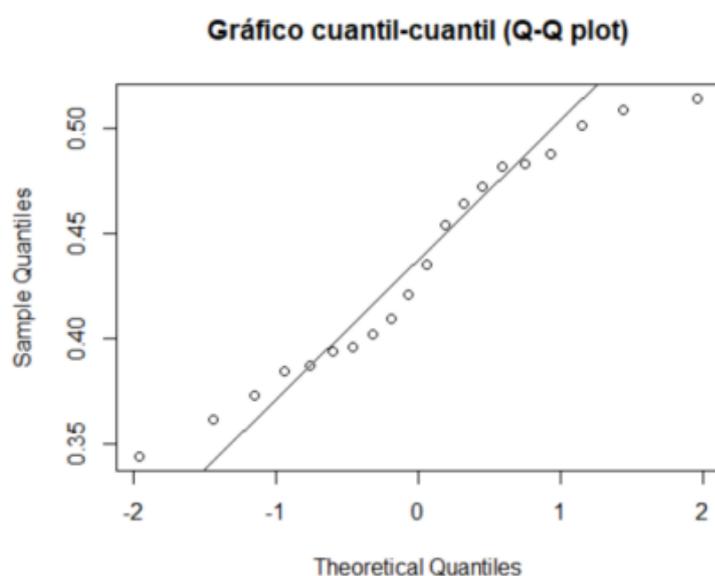
Tabla 23. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos en *Allium sativum*.

Prueba Shapiro-Wilk (distribución normal)		
Data	w	p-value
Halos de Inhibición	0.94164	0.2575

Fuente: Autores.

Figura 29.

Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos en *Allium sativum*.



Nota. Se puede observar que los datos siguen una distribución normal. Fuente: Autores.

Tabla 24. Análisis de varianza (ANOVA) de datos en *Allium sativum*.

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Tratamiento	9	0.04577	0.005085	6.493	0.00362
Error	10	0.00783	0.000783		

Fuente: Autores.

Tabla 25. Supuestos del modelo ANOVA.

Independencia	Normalidad
Prueba de Durbin-Watson	Prueba de Shapiro-Wilk
DW = 3.123	W = 0.98459
valor P = 0.4544	valor P = 0.9789

Fuente: Autores.

En la Tabla 26 se observó el promedio concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium sativum* frente a *Malassezia furfur*, los mismos que fueron, 0.385, 0.387, 0.402, 0.492, 0.467, 0.414, 0.481, 0.476, 0.477, y 0.352 ng/dL, de acuerdo a la microdiluciones 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.13, 0.06, y 0.03 $\mu\text{L}/\text{mL}$, respectivamente. En la Tabla 24 el Anova mostró diferencia significativa entre los tratamientos. En la Tabla 25 no se presentaron desviaciones severas a los supuestos del modelo Anova en independencia y normalidad. Las microdiluciones 2, 1, 0.25, 0.13 y 0.06 $\mu\text{L}/\text{mL}$ presentaron las mejores concentraciones mínimas inhibitorias 0.492, 0.467, 0.481, 0.476, y 0.477 ng/dL.

Tabla 26. Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium sativum* frente a *Malassezia furfur*.

Microdilución	Tratamientos	n	Inhibición (ng/dL)	Grupos
16	t1	2	0.385 ± 0.002	ab
8	t2	2	0.387 ± 0.020	ab
4	t3	2	0.402 ± 0.009	ab
2	t4	2	0.492 ± 0.012	a
1	t5	2	0.467 ± 0.065	aa
0.5	t6	2	0.414 ± 0.028	ab
0.25	t7	2	0.481 ± 0.038	a
0.13	t8	2	0.476 ± 0.016	a
0.06	t9	2	0.477 ± 0.007	a
0.03	t10	2	0.352 ± 0.012	b

Nota. Los resultados son expresados como promedio del halo de inhibición (mm) ± DS, n = 3. Tratamientos con una letra en común no difieren significativamente al 5%, de acuerdo con la prueba DSH de Tukey. Fuente: Autores.

Capacidad Mínima Inhibitoria del extracto etanólico de *Allium schoenoprasum*.

Los datos considerados fueron:

Tabla 27. Resultados obtenidos de la concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*.

	Microdilución	Tratamientos	Inhibición (ng/dL)	
	16	t1	0.56	
	16	t1	0.542	
	8	t2	0.482	
	8	t2	0.54	
	4	t3	0.486	Fuente:
	4	t3	0.495	Autores.
	2	t4	0.441	Los
datos	2	t4	0.606	presentaron
una	1	t5	0.577	distribución
	1	t5	0.487	normal, los
	0.5	t6	0.406	mismos fueron
	0.5	t6	0.483	evaluados
	0.25	t7	0.55	mediante la
	0.25	t7	0.519	prueba de
	0.13	t8	0.504	Shapiro-Wilk
	0.13	t8	0.56	(Tabla 28) y el
	0.06	t9	0.514	gráfico Cuartil-
30).	0.06	t9	0.523	Cuartil (Figura
	0.03	t10	0.366	
	0.03	t10	0.469	

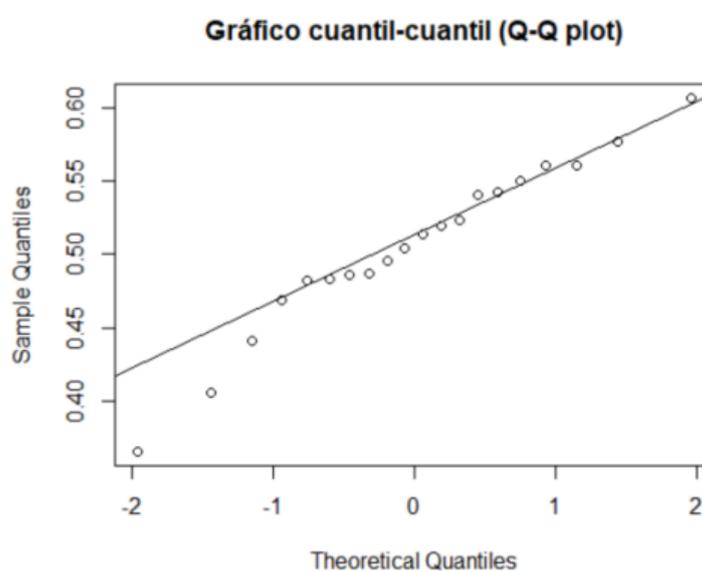
Tabla 28. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk de datos en *Allium schoenoprasum*.

Prueba Shapiro-Wilk (distribución normal)		
Data	w	p-value
Halos de Inhibición	0.96549	0.6583

Fuente: Autores.

Figura 30.

Cuartil - Cuartil (Q-Q plot) de datos en *Allium schoenoprasum*.



Nota. Se puede observar que los datos siguen una distribución normal. Fuente: Autores.

Tabla 29. Análisis de varianza (ANOVA) de datos en *Allium schoenoprasum*.

Fuente	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr (>F)
Tratamiento	9	0.03306	0.003673	1.228	0.374
Error	10	0.02991	0.002991		

Fuente: Autores.

En la Tabla 30 se observó el promedio concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*, los mismos que fueron, 0.55, 0.51, 0.49, 0.52, 0.53, 0.44, 0.534, 0.532, 0.518, y 0.417 ng/dL, de acuerdo a la microdiluciones

16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.13, 0.06, y 0.03 $\mu\text{L/mL}$, respectivamente. En la Tabla 29 el Anova no mostró diferencia significativa entre los tratamientos. Por lo cual, cualquier microdilución podría ser empleada, ya que la concentración mínima inhibitoria será la misma.

Tabla 30. *Concentración mínima inhibitoria del extracto etanólico de Allium schoenoprasum frente a Malassezia furfur.*

Microdilución	Tratamientos	n	Inhibición (ng/dL)	Grupos
16	t1	2	0.55 \pm 0.012	a
8	t2	2	0.51 \pm 0.041	a
4	t3	2	0.49 \pm 0.006	a
2	t4	2	0.52 \pm 0.116	a
1	t5	2	0.53 \pm 0.063	a
0.5	t6	2	0.44 \pm 0.054	a
0.25	t7	2	0.534 \pm 0.021	a
0.13	t8	2	0.532 \pm 0.039	a
0.06	t9	2	0.518 \pm 0.006	a
0.03	t10	2	0.417 \pm 0.072	a

Nota. Los resultados son expresados como promedio del halo de inhibición (mm) \pm DS, n = 3. Tratamientos con una letra en común no difieren significativamente al 5%, de acuerdo con la prueba DSH de Tukey. Fuente: Autores.

CAPÍTULO 5

5. Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

Al finalizar el trabajo de investigación sobre evaluación in vitro de la actividad antifúngica de los extractos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur* se concluye:

Mediante el screening fitoquímico de los diferentes extractos etanólicos fue posible identificar la presencia de distintos metabolitos secundarios. En *Allium cepa* (cebolla) y *Allium sativum* (ajo) presentaron alcaloides y flavonoides, y además se encontraron taninos en *Allium cepa* (cebolla), y saponinas solo se pudo observar en *Allium schoenoprasum* (cebollín). Por último, se detectaron compuestos sulfurados en los tres extractos estudiados.

Por medio del método de difusión en agar fue posible evaluar la actividad antifúngica de los diferentes extractos etanólicos frente a *Malassezia furfur*. Los 3 extractos mostraron halos de inhibición, siendo el de *Allium sativum* (ajo) el de mayor efecto, seguido de *Allium cepa* (cebolla) y, con menor efecto, *Allium schoenoprasum* (cebollín).

A través del método de microdilución en caldo fue posible determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los diferentes extractos etanólicos frente a *Malassezia furfur*, entre ellos: *Allium cepa* y *Allium sativum* mostraron diferencia significativa entre sus tratamientos, sin embargo, *Allium schoenoprasum* no mostró diferencia significativa entre sus tratamientos.

De acuerdo al análisis estadístico fue posible comparar la actividad antifúngica de los diferentes extractos etanólicos frente a *Malassezia furfur*. En relación con el método de difusión en discos, el Anova mostró diferencia significativa entre los tratamientos (valor P = 0.000157), destacando el tratamiento 2 (*Allium sativum*) ya que obtuvo mayor halo de inhibición en

comparación con el tratamiento 1 (*Allium cepa*) y tratamiento 3 (*Allium schoenoprasum*). Con respecto al método de microdilución en caldo, en *Allium cepa* (valor P = 0.000157) y *Allium sativum* (valor P = 0.00362) el Anova mostró diferencia significativa entre los tratamientos obteniendo mejores concentraciones inhibitorias, y en *Allium schoenoprasum* (valor P = 0.374) el Anova no mostró diferencia significativa entre los tratamientos por lo que cualquier concentración podría ser empleada. Esta variación en la actividad antifúngica es debido a su composición química, ya que los distintos compuestos bioactivos presentes en cada extracto pueden influir en la eficacia de los mismos.

Se puede concluir que los resultados experimentales demuestran la actividad antifúngica de las plantas, por esta razón, se acepta la hipótesis en la que los extractos etanólicos de *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollino) presentan similar actividad antifúngica frente a *Malassezia furfur*.

5.2. Recomendaciones

Se recomienda realizar más investigaciones acerca de las propiedades que poseen *Allium cepa* (cebolla), *Allium sativum* (ajo) y *Allium schoenoprasum* (cebollín), debido a que no solo presentan propiedades antifúngicas.

Explorar otros procesos de extracción que nos ofrezcan un mayor rendimiento y una mejor recuperación de los compuestos activos de los extractos. Además, es importante considerar la optimización de las concentraciones de estos extractos, con el fin de maximizar su eficacia antifúngica y minimizar posibles efectos adversos.

Trabajar en condiciones estériles durante el proceso experimental, y seguir rigurosamente las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL) incluyendo el uso de ropa protectora, trabajo en cabinas de flujo laminar cuando sea necesario, correcta manipulación de muestras y reactivos. Estas medidas evitan la presencia de contaminantes que podrían comprometer los resultados.

Dado los resultados de la actividad antifúngica de los extractos etanólicos de *Allium cepa*, *Allium sativum* y *Allium schoenoprasum* frente a *Malassezia furfur*, es trascendente cuantificar compuestos activos y explorar posibles aplicaciones en productos dermatológicos como shampoos, lociones y cremas para el tratamiento de infecciones causadas por *Malassezia furfur*. Además ampliar la investigación in vivo para incluir más variables y condiciones, como estabilidad y vida útil de los productos formulados con estos extractos que permitan garantizar su conservación.

REFERENCIAS

Albertuz Crespo, M. (2021). *Evaluación in vitro de la actividad antimicrobiana de dos compuestos derivados de Allium cepa (propil propano tiosulfinato y propil propano tiosulfonato) frente a microorganismos patógenos humanos.*

Alcaciega Farinango, A. E., & Pazmiño Salazar, M. E. (2022). *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE EXTRACTOS DE UVILLA (PHYSALIS PERUVIANA) Y DIENTE DE LEÓN (TARAXACUM OFFICINALE) EN UNA FORMULACIÓN PARA DESINFECCIÓN DE ALIMENTOS.*

Alcaraz, E. C., Mallo, A. C., & Nitui, D. S. (2023). Revisión bibliográfica de *Allium sativum* (Amaryllidaceae) como importante inhibidor del desarrollo microbiano y fúngico. *Boletín de La Sociedad Argentina de Botánica*, 58(3). <https://doi.org/10.31055/1851.2372.v58.n3.40191>

Alulema Salguero, A. R. (2010). *DETERMINACIÓN DE LA SENSIBILIDAD IN VITRO DE Malassezia globosa FRENTE A LOS HIDRODESTILADOS DE Calendula officinalis, Rosmarinus officinalis Y Salix alba.*

Amaguaña Rojas, F. J., & Churuchumbi Rojas, E. F. (2018). *ESTANDARIZACIÓN FITOQUÍMICA DEL EXTRACTO DE CALÉNDULA (Calendula officinalis).*

Apaza Lopez, A. G., & Solis Aquino, L. S. (2019). *Eficiencia de extractos etanólicos de vegetales para el control in vitro del hongo fitopatógeno (Fusarium verticillioides), Lima - 2019.*

Balaji, V. K., Ragunathan, L., Kannaiyan, K., & Duraipandian, J. (2023). Antifungal susceptibility testing of *Malassezia* spp isolated from patients with Pityriasis versicolor and healthy individuals. *Microbes and Infectious Diseases*, 4(3), 988–993. <https://doi.org/10.21608/MID.2023.196612.1473>

Barraza, M. A., Calabro, L. R., Delgado, E. M., Peñaloza Azcurra, I., & Suarez Medina, A. L. (2020). *USOS Y CONOCIMIENTOS DE PLANTAS MEDICINALES*.

Bentarhlia, N., Kartah, B. E., Fadil, M., el Harkaoui, S., Matthäus, B., Abboussi, O., Abdelmoumen, H., Bouhnik, O., & el Monfalouti, H. (2024). Exploring the wound-healing and antimicrobial potential of *Dittrichia viscosa* L lipidic extract: Chemical composition and in vivo evaluation. *Fitoterapia*, 172, 105707. <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2023.105707>

Bonilla Correa, C. R., & Pérez Gil, Y. M. (2010). *Cebollín (Allium schoenoprasum L.) PRODUCCIÓN Y MANEJO POSCOSECHA*.

Bravo Torres, I., Erazo Yagual, R., & García Larreta, S. (2021). Actividad antigunficida del aceite esencial y extrato alcohólico de mentha piperita contra *Malassezia furfur*. *Revista Universidad de Guayaquil*, 133(2), 17–26. <https://doi.org/10.53591/rug.v133i2.1380>

Buestán Orellana, A. D. R., & Torres Sigüenza, M. L. (2018). *ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE EXTRACTOS DE PROPÓLEOS DE LA REGIÓN DEL AUSTRO ECUATORIANO*.

Cantón Lacasa, E., Martín Mazuelos, E., & Espinel-Ingroff, A. (2010). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). In *Revista Iberoamericana de Micología*.

Carrillo Rodríguez, D. (2012). *COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO DE CEBOLLA (Allium cepa L) A CIELO ABIERTO EN CUATRO NIVELES DE LOMBRICOMPOSTA Y SUELO*.

Carvalho Miranda, K., Rodrigues de Araujo, C., Rodrigues Costa, C., Sena Passos, X., Lisboa Fernandes, O. de F., & Rodrigues Silva, M. do R. (2007). Antifungal activities of azole

agents against the *Malassezia* species. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 29(3), 281–284. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2006.09.016>

Cavaliere, S. J., Harbeck, R. J., McCarter, Y. S., Ortez, J. H., Rankin, I. D., Sautter, R. L., Sharp, S. E., & Spiegel, C. A. (2005). *Manual de Pruebas de Susceptibilidad Antimicrobiana*.

Chakraborty, A. J., Uddin, T. M., Matin Zidan, B. M. R., Mitra, S., Das, R., Nainu, F., Dhama, K., Roy, A., Hossain, M. J., Khusro, A., & Emran, T. bin. (2022). Allium cepa: A Treasure of Bioactive Phytochemicals with Prospective Health Benefits. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/4586318>

Chávez Almache, J. G. (2013). *ELABORACIÓN DE SHAMPOO DE ROMERO (Rosmarinus officinalis) CON ACTIVIDAD ANTI Malassezia globosa A ESCALA PILOTO*.

Chunata Sánchez, L. M. (2011). *TRATAMIENTO DE LA PITYRIASIS CAPITIS DEL CUERO CABELLUDO PRODUCIDA POR Malassezia globosa CON SHAMPOO DE ROMERO (Rosmarinus officinalis)*.

CLSI. (2012). METODO DE DETERMINACION DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA POR DILUCION. *Servicio Antimicrobianos*, 32(2).

Corrales Reyes, I. E., & Reyes Pérez, Dr. C. J. J. (2014). ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA Y ANTIFÚNGICA DE ALLIUM SATIVUM EN ESTOMATOLOGÍA. *Revista 16 de Abril*, 254, 59–68.

Corzo Barragán, D. C. (2012). Evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(3), 81–86. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952012000300009&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Deka, B., Manna, P., Borah, J. C., & Talukdar, N. C. (2022). A review on phytochemical, pharmacological attributes and therapeutic uses of Allium hookeri. *Phytomedicine Plus*, 2(2). <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2022.100262>

Dembetembe, T. T., Rademan, S., Twilley, D., Banda, G. W., Masinga, L., Lall, N., & Kritzinger, Q. (2023). Antimicrobial and cytotoxic effects of medicinal plants traditionally used for the treatment of sexually transmitted diseases. *South African Journal of Botany*, *154*, 300–308. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.01.042>

Diah, A. (2018). Perbedaan Zona Hambat Terhadap Jamur *Malassezia furfur* Antara Pemberian Ekstrak Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* Linn) Dengan Ekstrak Kulit Umbi Bawang Putih (*Allium sativum* Linn). *The Journal Of Muhammadiyah Medical Laboratory Technologist*, *1*(2), 166–176.

Far, F. E., Al-Obaidi, M. M. J., & Desa, M. N. M. (2018). Efficacy of modified Leeming-Notman media in a resazurin microtiter assay in the evaluation of in-vitro activity of fluconazole against *Malassezia furfur* ATCC 14521. *Journal de Mycologie Médicale*, *28*(3), 486–491. <https://doi.org/10.1016/J.MYCMED.2018.04.007>

Fariña-González, N., Acosta, R., Samudio, M., Adama, A., Bolla, L., Figueredo, L., & Giusiano, G. (2019). Especies de *Malassezia* causantes de pitiriasis versicolor en Paraguay. *Revista Chilena de Infectología*, *36*(6), 742–749. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000600742>

Fernández C., P., González de Morán, E., Delmonte V, M. L., & Robertiz Ch, S. (2014). Caracterización de especies de *Malassezia* en piel sana de estudiantes de secundaria. *Kasmera*, *42*(1), 66–73. http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222014000100007&lng=es&nrm=iso&tlng=es

Fernando Malca-Díaz, J., Marianella, L., Incio-Granthon, E., Cesar, M., Ñique-Carbajal, A., Lisseth, M., Rodríguez-Cruz, D., Rosa, D., Díaz-Manchay, J., Jimmy, M., & Malca-Vásquez, A. (2020). EVALUACIÓN DEL ÍNDICE MITÓTICO DE MERISTEMOS RADICULARES DE ALLIUM CEPA “CEBOLLA” EXPUESTOS A DIFERENTES CONCENTRACIONES DE METOTREXATO EVALUATION OF THE MITOTIC INDEX OF ROOT MERISTEMS OF ALLIUM CEPA “ONION” EXPOSED TO DIFFERENT CONCENTRATIONS OF METHOTREXATE. In *MEDICINA NATURISTA* (Vol. 14).

Flor Olivo, H. I., & Parra Pedraza, M. J. (2017). *ESTANDARIZACIÓN FITOQUÍMICA DE EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICOS DE ISHPINK, Ocotea quixos (LAM.) KOSTERN.*

Galvis-Marín, J. C., Rodríguez-Bocanegra, M. X., Pulido-Villamarín, A. del P., Castañeda-Salazar, R., Celis-Ramírez, A. M., & Linares-Linares, M. Y. (2017). Actividad antifúngica in vitro de azoles y anfotericina B frente a *Malassezia furfur* por el método de microdilución M27-A3 del CLSI y Etest®. *Revista Iberoamericana de Micología*, 34(2), 89–93. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.05.004>

García Carillo, V. (2008). *Comportamiento del Cultivo del Ajo (Allium sativum L.), a la Aplicación de Agentes Microbianos Promotores del Crecimiento y Antagonistas de Fitopatógenos.*

Gîtin, L., Dinică, R., & Parnavel, R. (2012). The Influence of Extraction Method on the Apparent Content of Bioactive Compounds in Romanian *Allium* spp. Leaves. *Not Bot Horti Agrobo*, 40(1), 93–97. www.notulaebotanicae.ro

Guayasamin López, M. E. (2016). *EVALUACIÓN ANTIMICÓTICA DE EXTRACTO DE MOSQUERA (Croton elegans.) FRENTE A: Trichophyton mentagrophytes ATCC 9533, Trichophyton rubrum ATCC 28188, Microsporum canis ATCC 36299, Candida albicans ATCC 10231, PATÓGENOS DE DERMATOMICOSIS.*

Guillamon, E. (2018). Efecto de compuestos fitoquímicos del género *Allium* sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharmaceutica*, 59(3), 185–196. <https://doi.org/10.30827/ars.v59i3.7479>

Gutierrez Ninachoque, D., & Ortiz de Orue Meza, J. O. (2022). *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICOTICA IN VITRO FRENTE A Malassezia furfur CEPA ATCC 14521 Y DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE COLORACIÓN CAPILAR DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y DEL TINTE SHAMPOO ELABORADO A PARTIR DEL FRUTO DE Genipa americana L. (Huito).*

Hadrich, I., & Ayadi, A. (2018). Epidemiology of antifungal susceptibility: Review of literature. *Journal de Mycologie Médicale*, 28(3), 574–584. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2018.04.011>

Hernández Escareño, J. J. (2005). *Caracterización molecular de especies del género Malassezia*.

Inlago Guasgua, M. I. (2014). *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA IN VITRO DEL EXTRACTO DE TOMILLO (Thymus vulgaris) EN COMPARACIÓN CON LA NISTATINA Y EL GLUCONATO DE CLORHEXIDINA AL 0,2% SOBRE CEPAS DE Candida albicans*.

Julca León, G. E. (2018). *EFEECTO in vitro DEL EXTRACTO CRUDO LIOFILIZADO DE Allium sativum “ajo” AL 0.5, 1, 5, 10, 25% DE CONCENTRACIÓN SOBRE Staphylococcus aureus*.

Khosravi, A. R., Shokri, H., & Fahimirad, S. (2016). Efficacy of medicinal essential oils against pathogenic *Malassezia* sp. isolates. *Journal de Mycologie Médicale*, 26(1), 28–34. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.10.012>

Kurnia, D., Ajiati, D., Heliawati, L., & Sumiarsa, D. (2021). Antioxidant properties and structure-antioxidant activity relationship of allium species leaves. *Molecules*, 26(23). <https://doi.org/10.3390/molecules26237175>

Laokor, N., & Juntachai, W. (2021). Exploring the antifungal activity and mechanism of action of Zingiberaceae rhizome extracts against *Malassezia furfur*. *Journal of Ethnopharmacology*, 279. <https://doi.org/10.1016/J.JEP.2021.114354>

Ledezma, E., & Apitz-Castro, R. (2006). Ajoene, el principal compuesto activo derivado del ajo (*Allium sativum*), un nuevo agente antifúngico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 23(2), 75–80. [https://doi.org/10.1016/S1130-1406\(06\)70017-1](https://doi.org/10.1016/S1130-1406(06)70017-1)

Lee, J.-H., & Lee, J.-S. (2010). Chemical Composition and Antifungal Activity of Plant Essential Oils against *Malassezia furfur*. In *J. Microbiol. Biotechnol* (Vol. 38, Issue 3).

Lee, J.-H., & Lee, J.-S. (2011). Cytotoxicity and Anti-Malassezia Activity of Limonene. In *Korean J. Microbiol. Biotechnol* (Vol. 39, Issue 4).

Liu, Y.-T., Lee, M.-H., Lin, Y.-S., & Lai, W.-L. (2022). The Inhibitory Activity of Citral against *Malassezia furfur*. *Processes*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/pr10050802>

Lora Cahuas, C., Luján Velásquez, M., Robles Castillo, H., Saravia Cueva, V., & Cabeza Rodríguez, J. (2010). In vitro effect of different concentrations of *Allium sativum* “garlic” on dermatophytes and *Candida albicans*. *UCV - Scientia*, 2(2).

Loría Gutiérrez, A., Blanco Barrantes, J., Porrás Navarro, M., Ortega Monge, M. C., Cerdas Vargas, M. J., & Madrigal Redondo, G. L. (2021). Aspectos generales del *Allium sativum* - una revisión. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 62(4), 471–481. <https://doi.org/10.30827/ars.v62i4.20843>

Medeiros, K. de A., Costa, E. V. da, Oliveira, F. de A. S. de, Moreira, L. M. C. de C., Rocha, W. R. V. da, Silva, J. A. da, Damasceno, B. P. G. de L., & Casimiro, D. T. (2022). Extracts and Fractions with antifungal potential for the treatment of hair disorders. *Research, Society and Development*, 11(15), e129111537003. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i15.37003>

Morales Guamán, A. R. (2020). *EVALUACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICO Y ACUOSO DE LA CÁSCARA DE PLÁTANO (Musa paradisiaca L.), FRENTE A Propionibacterium acnes PARA SU USO EN LA ELABORACIÓN DE UN GEL ANTIACNÉ.*

Naeini, A. R., Nazeri, M., & Shokri, H. (2018). Inhibitory effect of plant essential oils on *Malassezia* strains from Iranian dermatitis patients. *Journal of HerbMed Pharmacology*, 7(1), 18–21. <https://doi.org/10.15171/jhp.2018.04>

Najeebullah, S., Shinwari, Z. K., Jan, S. A., Khan, I., & Ali, M. (2021). Ethno-medicinal and phytochemical properties of genus *allium*: A review of recent advances. *Pakistan Journal of Botany*, 53(1), 135–144. [https://doi.org/10.30848/PJB2021-1\(34\)](https://doi.org/10.30848/PJB2021-1(34))

Ordóñez Rea, O. L. (2016). *EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE EXTRACTO DE MOSQUERA (Croton elegans.) FRENTE A (Staphylococcus aureus ATCC: 25923, Streptococcus pyogenes ATCC: 19615, Streptococcus pneumoniae ATCC: 49619 y Streptococcus mutans ATCC: 25175), PATÓGENOS DE ENFERMEDADES RESPIRATORIAS.*

Ortiz Galindo, N. S. (2023). *DETERMINACIÓN IN VITRO DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE LOS EXTRACTOS ELABORADOS CON HIERBA LUISA (Cymbopogon citratus) FRENTE A LAS BACTERIAS Escherichia coli Y Staphylococcus aureus.*

Oyawoye, O. M., Olotu, T. M., Nzekwe, S. C., Idowu, J. A., Abdullahi, T. A., Babatunde, S. O., Ridwan, I. A., Batiha, G. E., Idowu, N., Alorabi, M., & Faidah, H. (2022). Antioxidant potential and antibacterial activities of *Allium cepa* (onion) and *Allium sativum* (garlic) against the multidrug resistance bacteria. *Bulletin of the National Research Centre*, 46(1). <https://doi.org/10.1186/s42269-022-00908-8>

Pesantes Domínguez, O. G., Bustamante Pesantes, K. E., Miranda Martínez, M., & Gutiérrez Gaitén, Y. (2017). Estudio farmacognóstico de *Allium shoenoprasum* L. (Alliaceae) (cebollín). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 22(2).

Pesantes Domínguez, O. G., Bustamante Pesantes, K. E., Miranda Martínez, M., & Gutiérrez Gaitén, Y. (2019). Estudio químico y evaluación biológica del extracto etanólico de *Allium schoenoprasum* L. Regel & Tiling (Cebollín). *Revista Cubana de Farmacia*, 52(1). https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/deed.es_ES

Pingili, M., Vanga, S., & Raparla, R. (2016). Antifungal activity of plant extracts against dandruff causing organism *Malassezia furfur*. *International Journal of Bioassays*, 5(11), 5047–5049. <https://doi.org/10.21746/ijbio.2016.11.0010>

Pompilla Rosales, C. B., & Vargas La Hermoza, H. (2024). *ACTIVIDAD ANTIMICOTICA DEL SHAMPOO ELABORADO CON ACEITE ESENCIAL DE MUÑA (Menthostachys acris Schmidt-Leb.) SOBRE Malassezia furfur ATCC® 14521™.*

Robles-García, M. A., Aguilar, A. J., Gutiérrez-Lomelí, M., Rodríguez-Félix, F., Morales-Del-Río, J. A., Guerrero-Medina, P. J., Madrigal-Pulido Jaime Alberto, & Del-Toro-Sánchez, C. L. (2016). IDENTIFICACIÓN CUALITATIVA DE METABOLITOS SECUNDARIOS Y DETERMINACIÓN DE LA CITOTOXICIDAD DE EXTRACTOS DE TEMPISQUE (*Sideroxylum capiri* PITTIER). *Biotecnia*, 18(3), 3–8. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=672971113001>

Rodríguez Landa, J. F., Hernández Lozano, M., & Méndez Ventura, L. M. (2020). *Manual de prácticas de farmacognosia*.

Rodríguez, G. (2020). *Extracción de activos cosméticos a partir de especies vegetales* | *Artículos Online*. Industria Cosmética. <https://www.industriacosmetica.net/articulos-online/extraccion-de-activos-cosmeticos-a-partir-de-especies-vegetales-TCfZF>

Ruiz Quiroz, J. R. (2013). *Actividad Antifúngica In Vitro y Concentración Mínima Inhibitoria mediante Microdilución de ocho plantas medicinales*.

Sarmiento Boada, M. I. (2020). *Malassezia: Virulencia e Inmunología*.

Saz Peiro, P., & Tejero Lainez, M. C. (2020). EL AJO. ALLIUM SATIVUM. *MEDICINA NATURISTA*, 14(1), 123–126.

Shams-Ghahfarokhi, M., Shokoohamiri, M. R., Amirrajab, N., Moghadasi, B., Ghajari, A., Zeini, F., Sadeghi, G., & Razzaghi-Abyaneh, M. (2006). In vitro antifungal activities of *Allium cepa*, *Allium sativum* and ketoconazole against some pathogenic yeasts and dermatophytes. *Fitoterapia*, 77(4), 321–323. <https://doi.org/10.1016/J.FITOTE.2006.03.014>

Silvers Anguieta, M. A. (2012). *ESTUDIO CLINICO DE LA ACTIVIDAD ANTIFUNGICA DEL GEL CON TOCTE, HIGO, DULCAMARA Y SALVIA EN NIÑOS DE LA COMUNIDAD SANJAPAMBA CON Malassezia furfur*.

Sorlozano-Puerto, A., Albertuz-Crespo, M., Lopez-Machado, I., Gil-Martinez, L., Ariza-Romero, J. J., Maroto-Tello, A., Baños-Arjona, A., & Gutierrez-Fernandez, J. (2021). Antibacterial and antifungal activity of propyl-propane-thiosulfinate and propyl-propane-thiosulfonate, two

organosulfur compounds from allium cepa: In vitro antimicrobial effect via the gas phase. *Pharmaceuticals*, 14(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ph14010021>

Stajner, D., & Szöllösi Varga, I. (2003). An evaluation of the antioxidant abilities of Allium species +. *Acta Biol Szeged*, 47(1–4), 103–106. <http://www.sci.u-szeged.hu/ABSSYMPOSIUM>

Stella Ramirez, L., & Marin Castaño, D. (2009). METODOLOGIAS PARA EVALUAR IN VITRO LA ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE COMPUESTOS DE ORIGEN VEGETAL. *Scientia et Technica Año XV*, 42.

Taleghani, A., Ayati, Z., Eghbali, S., Emami, S. A., & Tayarani-Najaran, Z. (2024). Health benefits of Allium spp. in metabolic syndrome: A review. *South African Journal of Botany*, 167, 217–255. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.01.040>

Tangarife Castaño, V. J. (2015). Infecciones micóticas: un problema de salud de importante diagnóstico. *MEDICINA & LABORATORIO*, 21(5–6), 209–210.

Teotia, D., Agrawal, A., Goyal, H., Jain, P., Singh, V., Verma, Y., Perveen, K., Bukhari, N. A., Chandra, A., & Malik, V. (2024). Pharmacophylogeny of genus Allium L. *Journal of King Saud University - Science*, 36(8). <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2024.103330>

Torres, E., Arenas, R., & Aroche-Diéguez, C. (2008). Infecciones causadas por el género Malassezia. *Med Cutan Iber Lat Am*, 36(6), 265–284.

Vallejo Villalobos, J. R., Peral Pacheco, D., & Carrasco Ramos, C. (2008). Las especies del género Allium con interés medicinal en Extremadura. *MEDICINA NATURISTA*, 2(1), 2–6.

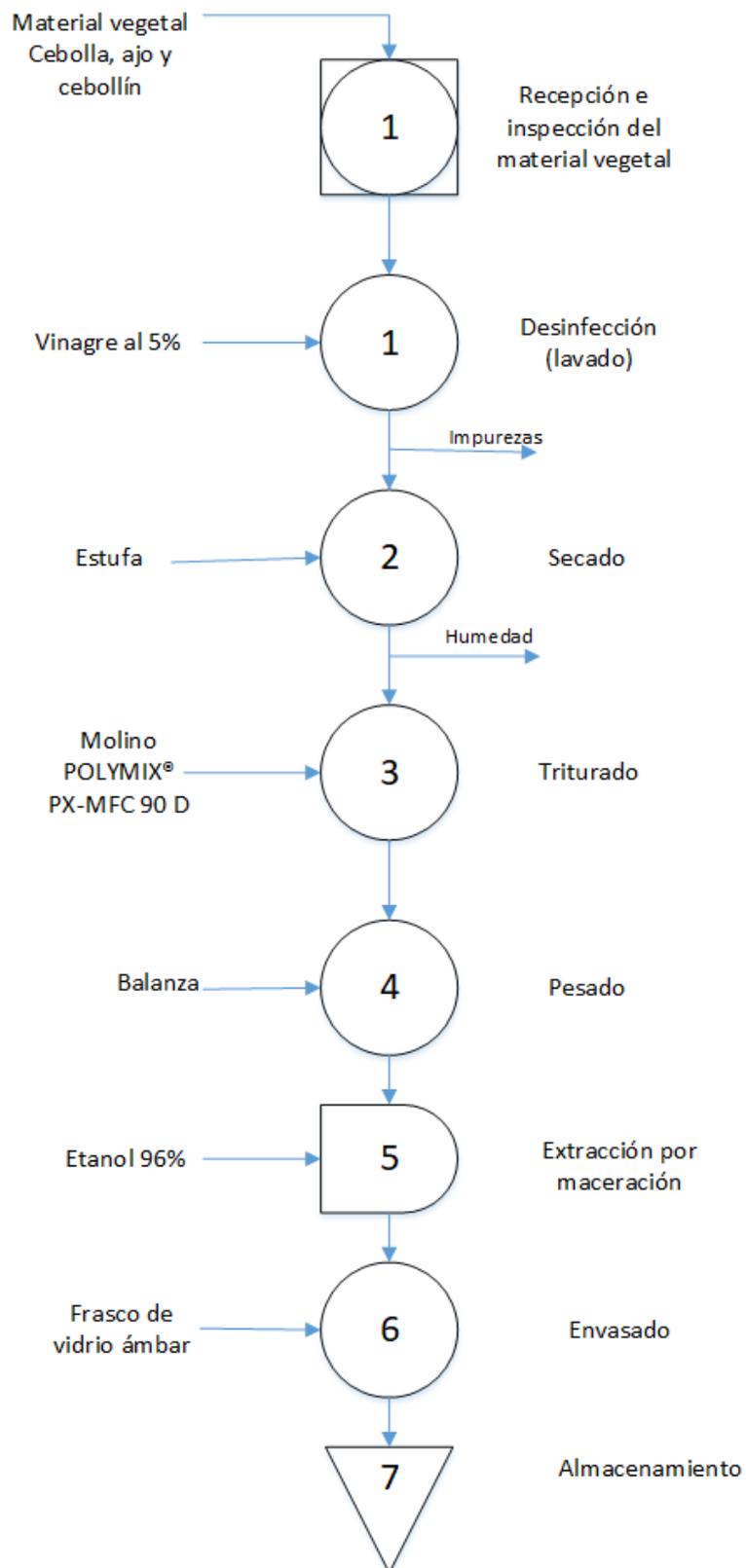
Velazque Carrasco, J. C. (2019). *Evaluación de la actividad antimicótica del esmalte de uñas elaborado usando el aceite esencial del Origanum vulgare L. (Orégano) frente Trichophyton rubrum ATCC 28188.*

Youngchim, S., Nosanchuk, J. D., Chongkae, S., & Vanittanokom, N. (2017). Ketoconazole inhibits Malassezia furfur morphogenesis in vitro under filamentation optimized

conditions. *Archives of Dermatological Research*, 309(1), 47–53. <https://doi.org/10.1007/s00403-016-1701-4>

ANEXOS

ANEXO 1. Diagrama de flujo de extracción.



Fuente: Autores.

ANEXO 2. Polvo pulverizado de las muestras vegetales en etanol al 96% para ser puestos en maceración.



Fuente: Autores.

ANEXO 3. Materiales y reactivos utilizados para el screening fitoquímico.



Fuente: Autores.

ANEXO 4. Absorbancia a 600 nm.



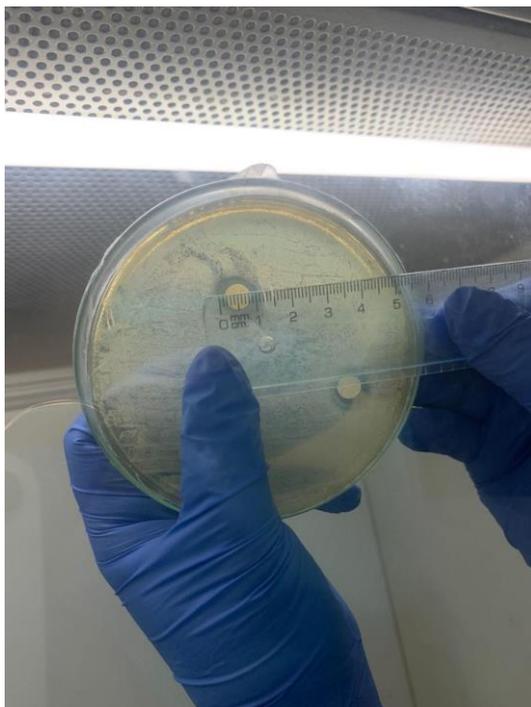
Fuente: Autores.

ANEXO 5. Preparación de solución de antifúngico Ketoconazol con dimetilsulfóxido (DMSO).



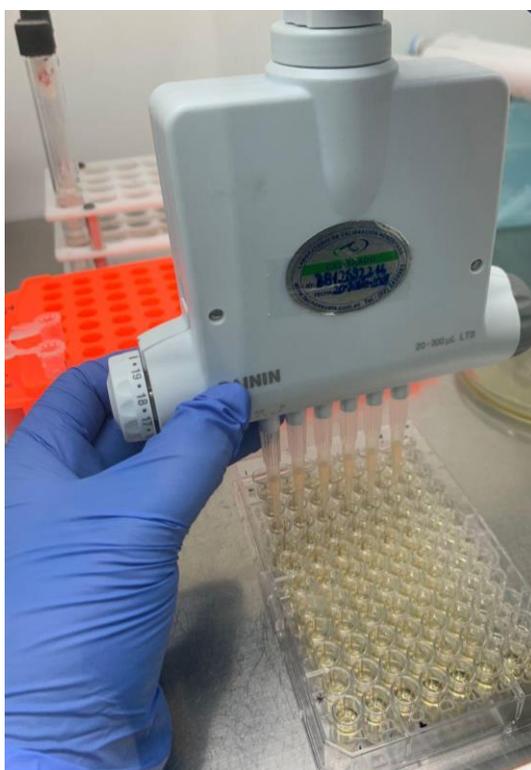
Fuente: Autores.

ANEXO 6. Medición de halos de inhibición.



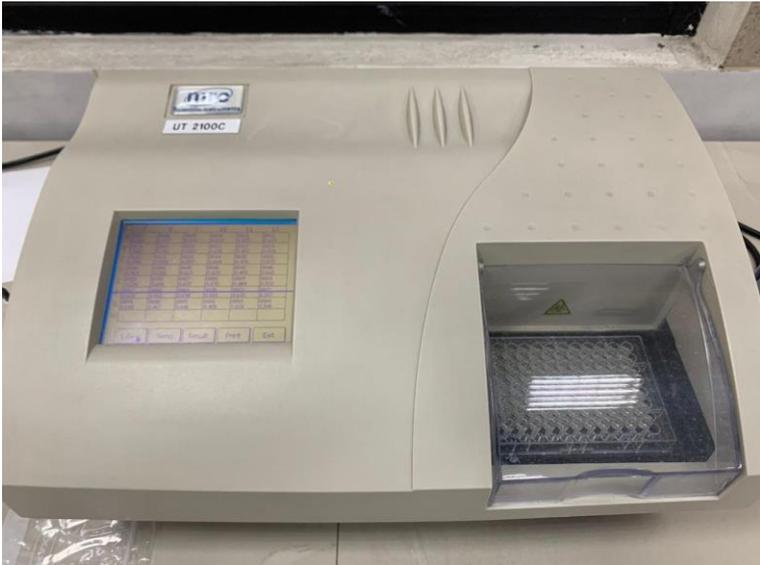
Fuente: Autores.

ANEXO 7. Inoculación de *Malassezia furfur* ATCC 14521 en los pocillos de la microplaca.



Nota. En la prueba de microdilución se utilizó una micropipeta multicanal. Fuente: Autores.

ANEXO 8. Lectura de microplacas



Nota. Para este procedimiento se utilizó UT-2100C Lector Automático de Microplacas. Fuente: Autores.