

EFFECTO ANTIMICÓTICO *in vitro* DEL ACEITE DE MOLLE (*Schinus molle* Linneo) SOBRE *Trichophyton mentagrophytes*

Antifungal Effect of molle (Schinus molle Linneo) oil on Trichophyton mentagrophytes “in vitro”

Jennifer Vásquez-Gonzales¹, Deyli Díaz²

RESUMEN

El objetivo fue determinar si el aceite de molle (*Schinus molle*) tiene efecto antimicótico *in vitro* sobre *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533. La investigación se realizó en el laboratorio de la Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas, entre los meses de marzo a agosto de 2011. Se usaron 24 placas Petri en donde se sembró la cepa liofilizada de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 en Agar Mycosel, cada placa se dividió en cuatro cuadrantes y se pusieron discos de sensibilidad embebidos de aceite de molle, en concentraciones de 2%, 4%, 6%, 8%, 10% y 12%, se utilizó aceite mineral de control. Los halos de inhibición se midieron con un vernier, observándose que existe inhibición de crecimiento en todas las concentraciones en promedios de 0,61 mm, 0,81 mm, 0,83 mm, 0,88 mm, 0,90 mm y 1,23 mm para las concentraciones de 2%, 4%, 6%, 8%, 10% y 12% respectivamente.

Palabras clave: antifúngico, hongo, control de crecimiento, antimicótico.

ABSTRACT

The objective was to determine if the molle oil (*Schinus molle* Linneo) has *in vitro* antifungal effect on *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533. The investigation was conducted in the laboratory Vet Medicine at Alas Peruanas University, from march to august 2011. 24 Petri plates, were used and planted the lyophilized strain of *Trichophyton mentagrophytes* ATCC

¹ Médica Veterinaria. Universidad Alas Peruanas. E-mail: ximenita4615@hotmail.com

² Bióloga y microbióloga. Docente de la EAP Medicina Veterinaria UAP E-mail: Delez79@hotmail.com

9533. Each plate was divided into four quadrants and sensitivity discs were embedded of molle oil at concentrations of 2%, 4%, 6 %, 8%, 10% and 12% mineral oil was used for control. The halos of inhibition were measured with a vernier, showing that there is inhibition of grew up in all concentrations in averaged 0.61 mm, 0.81 mm, 0.83 mm, 0.88 mm, 0.90 mm and 1.23 mm for concentrations of 2%, 4%, 6%, 8%, 10% and 12% respectively. We conclude that the molle essential oil inhibits the grow up of *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 in all concentrations used in this study.

Key words: antifungus, fungus, essential oil, growth control.

INTRODUCCIÓN

El Schinus molle L., llamado comúnmente molle (español), mulli (quechua), cullash, (1,2), pertenece a la familia *Anacardiaceae*; género *Schinus* la cual es una familia de árboles de 6 a 8 m de altura, de corteza áspera, con hojas compuestas de 7 a 25 pares de foliolos, sésiles, de color verde ceniciento a verde claro en ambas caras. Cuando se estrujan emiten un olor característico (1,2). Sus flores son pequeñas, de color blanco amarillento. Los frutos son drupa redondeada de color coral a rojo-púrpura cuando está madura. Las semillas son redondas, arrugadas cuando están secas, de color marrón a negro. Tiene una semilla por cada fruto (3).

Es una especie ampliamente distribuida en las montañas de Sudamérica y América Central de donde probablemente es nativa, se cultiva en las tierras tropicales y en áreas subtropicales a través del mundo como planta ornamental (2). En el Perú, se encuentra con mayor frecuencia entre los

100 a 3 200 msnm de la vertiente occidental, así también en los valles y las laderas interandinas (4).

Del aceite obtenido del fruto, se han identificado los monoterpenos alfa-cadineno, canfeno, carvacrol, para-gimeno, butirato de geraniol, limoneno, mirceno, hexanoato de nerol, alfa y beta- felandreno, alfa y beta-pineno, sabineno, alfa y gama-terpineno, alfa terpineol y el éster del ácido fórmico y terpinoleno; y los sesquiterpenes trans-ene-alfa-bergamont, bouboneno, alfa, beta, y T-cadinol, alfa y gama-calacoreno, beta-cariofileno, alfa-copaeno, alfa-cubeneno, beta y gama- endesmol, germacreno D, beta-guaieno, alfa-gurjuneno, alfa y gama-mouroleno.T-mourolol y beta- spatuleno. También se han identificado en el fruto los triterpenos, flavonoides y alto porcentaje de taninos, ácidos iso-mas-ticadienólico y el 3 epi isómero, y el alcaloide piperina (1, 5).

El aceite esencial de las hojas y frutos ha mostrado tener un efectivo repelente de insectos, particularmente contra la mosca casera, piojo (*Pediculus humanus capitis*) y polilla de papa (*Phthorimaea operculella zeller*) (2, 6), además de presenta actividad antibacteriana frente a cepas Gram positivas y Gram negativas (5).

Se conoce como antifúngico o antimicótico a cualquier sustancia capaz de producir una alteración en las estructuras de una célula fúngica que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, bien directa o indirectamente, lo que facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del huésped (7).

Las infecciones causadas por hongos a nivel de la piel reciben el nombre de dermatofitosis o micosis cutáneas. Los hongos que viven en el pelo, la piel y las uñas de muchos seres vivos son de los géneros: *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*, siendo las especies *Microsporum canis*, *Microsporum gypseum* y *Trichophyton mentagrophytes* (8, 9).

MATERIALES Y MÉTODOS

La extracción del aceite esencial de *Schinus molle* Linneo se realizó en el laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional del Callao a través del método de arrastre de vapor.

La metodología de destilación comprendió las siguientes etapas:

- Colección de frutos. La colección del fruto se realizó en la localidad de La Molina, esta operación se realizó en forma manual y sin talar árboles (1).
- Secado. Después de la cosecha de semillas (frutos maduros) se lavaron y seca ron a temperatura ambiente sin estar expuestas a rayos solares; luego se seleccionó las semillas maduras y aptas (10).
- Lavado. Se procedió a realizar varios lavados a las semillas para quitarle todos los azúcares y polvo, una vez seca la semilla se le retiró la cascarilla que las cubría así como las hojas y los palillos (10).
- Molienda. El fruto pasó por un proceso de molienda moderada con propósito de facilitar el paso del vapor y mayor área de contacto; liberando el aceite en su interior, siendo favorable para la extracción (1,10).
- Destilado. Para la destilación del aceite esencial de molle se pesó la muestra y se cargó el material, finamente triturado y dividido por pisos en bandejas de metal las cuales fueron cerradas herméticamente; en la base del destilador se adiciona agua; esta fue calentada hasta que el contenido empezó a bullir (1, 10, 11).
- Condensado. El vapor resultante es guiado al condensador donde es enfriado y convertido en forma líquida; En esta etapa la micela (vapor de agua – aceite) se condensa utilizando tubos de vidrio por medio del cual circula agua de enfriamiento (1, 11).
- Separación. La separación de la mezcla condensada se lleva a cabo en un vaso florentino que contiene un capilar sobresaliente por donde se extrae el agua, quedando sobre la superficie el aceite. Este forma una capa separadora que usualmente flota en la superficie del agua, para proceder a la medición de la cantidad obtenida (1, 10, 11).

- Conservación. Los volúmenes de aceite esencial obtenidos en la destilación se guardaron independientemente en frascos de vidrio de color ámbar; se mantuvieron a una temperatura de 2 C°- 8 C° en oscuridad, luego se filtró con papel Whatmann y a este producto se le denominó aceite esencial (1, 10, 11).

La prueba de sensibilidad se realizó en las instalaciones del laboratorio central de la Escuela Académica Profesional de Medicina Veterinaria de la Universidad Alas Peruanas donde la cepa liofilizada de *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533 fue estandarizada para lo cual se utilizó

20 ml de agua destilada estéril en donde se procedió a introducir el hongo liofilizado, se calibró el espectro fotómetro con agua destilada estéril a 625 nm, determinando la turbidez del inóculo con la absorbancia de 0,022 nm, obteniéndose el número aproximado de población fúngica 1×10^2

UFC/ml; debido a que se comparó con los tubos de Mc Farland. Luego de la estandarización se realizó la siembra de la cepa liofilizada a razón de 100 ul por siembra en Agar Mycosel, la cual se incubó a 27°C durante 4 días, y se observó sus características macroscópicas y microscópicas con azul de lacto fenol. (12)

Se prepararon 24 placas Petri con *Agar Mycosel* para determinar la actividad antimicótica del aceite de molle mediante el método de difusión de disco (aromatograma) para lo cual se sembró

100 ul del inóculo estandarizado, se dividió las placas Petri en cuatro campos y se colocaron los discos de acetato de celulosa, de 4,5 mm de diámetro y con un espesor de 220 um, a 12 placas Petri se les colocó los discos de sensibilidad embebidos de aceite esencial de *Schinus molle* Linneo en concentraciones de 2%, 4% y 6% mientras en las 12 placas restantes se colocó concentraciones de

8%, 10% y 12%; además en cada placa se colocó un disco con aceite mineral estéril como control. Pasado tres días se midió el halo de inhibición de crecimiento en milímetros con un vernier. Los resultados fueron tabulados para su posterior análisis. (12)

RESULTADOS

En el cuadro N° 1, se aprecian los promedios de los halos de control de crecimiento en milímetros; se observa que existe un halo de control desde 2% de aceite esencial de molle con 0,61 mm; 0,81 mm al 4%; 0,83 mm al 6%; 0,88 mm al 8%; 0,90 mm al 10% y 1,23 mm al 12%.

Cuadro N°1.- Halo de control de crecimiento del molle frente a *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533

	<i>Concentración de aceite esencial de molle (mm)</i>					
	2%	4%	6%	8%	10%	12%
Promedio	0,61	0,81	0,83	0,88	0,90	1,23

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el trabajo de enfrentamiento de *Trichophyton mentagrophytes* con las concentraciones al 2 % hasta el 12 % aceite esencial de *Schinus molle* permitieron observar halos de control de crecimiento desde 0,61 mm hasta el 1,23 mm respectivamente.

Comparando lo obtenido con los estudios realizados por Díaz (1998) coinciden en que el aceite de molle demuestra inhibición de crecimiento en diversas bacterias y algunos hongos, debido a su contenido de terpenos, alfa-pineno, beta-pineno, sesquiterpenos, monoterpenos y taninos. (4,10).

En otras investigaciones de aceite esencial de *Schinus molle* contra *Candida albicans* se reporta acción inhibitoria mayor a 18 mm (2,12).

Morán (2007); menciona que Zapata (2007) en una investigación realizada con dermatofitos, el aceite de molle tiene actividad dermatofítica contra *Trichophyton tonsurans* con halo 30,9 mm mientras que *Microsporum gypseum* forma un halo de 30,8 mm y con *Trichophyton mentagrophytes* tiene un halo de 17,5 mm en el tratamiento con molle a una concentración de 17,52 mg/ml (12).

Guba (2008), citado por Moran, determina que los aceites esenciales no demostraron ser tóxicos– carcinógeno en animales de experimentación, se indica también que el aceite esencial de *Schinus molle* L. no presenta toxicidad en animales ni en seres humanos. Por lo que podría ser usado en animales afectados por dermatofitosis (12).

La investigación *in vitro*, concluye que el aceite esencial de *Schinus molle* Linneo, al 2%, 4%, 6%, 8%, 10%, 12% controla el crecimiento de *Trichophyton mentagrophytes*; por ello constituye un método ecológico, económico contra este hongo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pezo A. Caracterización del aceite esencial de hojas de molle (*Schinus molle* Linneo) obtenido por dos métodos de destilación. [Tesis, para optar el título de ingeniero forestal]. Lima: Universidad Nacional Agraria la Molina; 2003.
2. Huamaní M, Ruiz J. Determinación de la actividad antifúngica contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger* de 10 plantas medicinales de tres departamentos del Perú. [Tesis, para optar el título de ingeniero químico farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2005.
3. Abasto K, Avilés E, Céspedes G, Claros E, Guillén V, Luna N, Morales M. “Plantas medicinales y sus usos”. Revista científica Burbuja universitaria. [Revista en Internet]. Citado el 24 mayo de 2010.
En: <http://www.univalle.edu/publicaciones/brujula/brujula17/pagina10.htm>.

4. Díaz C, Quesada S, Brenes O, Aguilar G, Ciccio, J. Chemical composition of *Schinus molle* essential oil and its cytotoxic activity on tumour cell lines, *Natural Product Research*. 2008; 22(17): Pp. 1521 — 1534
5. Díaz P, Torres R. Actividad antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Schinus molle*. [Tesis, para optar el título de ingeniero químico farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 1998.
6. Gutiérrez M, Stefanazzi N, Werdin González J, Benzi V, Ferrero A. “Actividad fumigante de aceites esenciales de *Schinus molle* (Anacardiaceae) y *Tagetes terniflora* (Asteraceae) sobre adultos de *Pediculus humanus capitis* ("Insecta"; Anoplura; *Pediculidae*). *Boletín Latinoamericano y del Caribe de plantas Medicinales y Aromáticas*. 2009; 8(3): Pp 176–179. [Revista en Internet]. [Recuperado el 24 de mayo del 2010]. En: <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=85611774012>.
7. Gregori B. “Estructura y actividad de los antifúngicos”. *Revista cubana farmacológica*. 2005. 39(2). [Revista en Internet]. [Recuperado el 2 de junio de 2010]. En: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol39_2_05/far12205.htm.
8. Vadillo S. *Manual de microbiología veterinaria*. Madrid: Editorial Interamérica-Mc Graw Hill; 2002.
9. Chacón G. “Infecciones cutáneas causadas por hongos”. *Revista Notican*. [Revista en Internet]. [Recuperado el 24 de mayo de 2010]. En: <http://www.notican.com/pages/articulos/012006/03hongos/003hongos>.
10. Morales R. Estudio de la extracción del aceite esencial de la semilla del *Schinus molle* Linneo a escala banco. [Tesis, para optar el título de ingeniero químico]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2000.
11. Toledo E. Concentración mínima inhibitoria del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*) sobre distintas cepas aisladas de alimentos. Lima: Universidad Nacional del Callao; 2006.
12. Morán J. Determinación de la actividad antimicótica in vitro de aceite esencial de *Schinus molle* Linneo frente a *Candida albicans*. [Tesis, para obtener el título de químico farmacéutico]. Lima: Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann Tacna; 2009.