



---

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE  
CHIMBOTE

FILIAL TRUJILLO

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

**EFECTO ANTIMICÓTICO IN VITRO DEL ACEITE  
ESENCIAL DE HOJAS DE *Schinus molle* L. FRENTE A  
CEPAS DE *Candida albicans***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO  
FARMACÉUTICO.

AUTORA:

Bach. PAULA MARILU ZEGARRA CARRERA

ASESOR:

Mgtr. CÉSAR ALFREDO LEAL VERA

TRUJILLO-PERÚ

2018

**JURADO EVALUADOR DE TESIS**

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

**Presidente**

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

**Miembro**

Mgtr. Luisa Olivia Amaya Lau

**Miembro**

Mgtr. César Alfredo Leal Vera

**Docente tutor investigador**

## AGRADECIMIENTO

*A Dios, por brindarme la  
sabiduría e inteligencia y  
fortaleza para seguir adelante  
hasta culminar con éxito mi  
carrera profesional.*

*A mis padres y hermanos, por  
Brindarme su apoyo económico y  
moral para ser una persona  
competitiva en la sociedad.*

*A mis docentes de la universidad  
ULADECH por transmitirme sus  
conocimientos en mi formación  
profesional.*

## DEDICATORIA

*A Dios, Por haberme dado la vida  
y la sabiduría para cumplir uno de  
mis sueños más anhelados.*

*A mis padres y hermanos, quienes se han  
esforzado para brindarme su apoyo  
incondicional, amor y cariño en todo  
momento.*

*A mis docentes y amigos, que de  
una u otra forma me han brindado  
su apoyo y orientación en mi  
trabajo de investigación.*

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación experimental, se realizó con el objetivo de comprobar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.*, frente a cepas de *Candida albicans*. La muestra vegetal fue recolectada en el Centro Poblado Menor de Chuquibamba, Provincia Cajabamba, departamento Cajamarca. La extracción del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.*, se obtuvo por hidrodestilación empleando el equipo de Clevenger de marca ISOLAB. El estudio estuvo conformado por 4 grupos (5 placas por cada grupo): Grupo control con dimetilsulfoxido (DMS) al 5 %, grupo estándar con fluconazol al 25ug/ml y dos grupos experimentales con aceite esencial a concentraciones al 10 % y 20 % diluido en DMS. Mediante el método Kirby-Bauer se evaluó la actividad biológica frente a *Candida albicans*, observando promedios y desviación estándar para los halos de inhibición de 18.4 mm  $\pm$ 0.094 para el 10 % y de 19.4 mm  $\pm$ 0.282 para el 20 %, según ANOVA se observó el valor P es menor que alfa (0.05) por lo que rechaza hipótesis nula y se acepta la hipótesis afirmativa. Se concluye que el aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* a concentraciones al 10 % y 20 % tiene efecto antimicótico in vitro frente a *Candida albicans*.

**Palabra clave:** Schinus molle, aceite esencial, anti fúngico, Candida albicans, efecto antimicótico, halo de inhibición.

## ABSTRAC

The present experimental research work was carried out in order to verify the in vitro antifungal effect of the essential leaf oil of *Schinus molle* L, against strains of *Candida albicans*. The vegetal sample was collected in the Small Town Center of Chuquibamba, Cajabamba Province, Cajamarca department. The extraction of the essential oil of leaves of *Schinus molle* L, was obtained by hydrodistillation using the equipment of Clevenger of brand ISOLAB. The study consisted of 4 groups (5 plates per group): Control group with 5% dimethylsulfoxide (DMS), standard group with fluconazole at 25ug / ml and two experimental groups with essential oil at 10% and 20% diluted concentrations in DMS. Using the Kirby-Bauer method, the biological activity against *Candida albicans* was evaluated, observing averages and standard deviation for the inhibition zones of  $18.4 \text{ mm} \pm 0.094$  for 10% and  $19.4 \text{ mm} \pm 0.282$  for 20%, according to ANOVA. The P value is less than alpha (0.05), so it rejects the null hypothesis and the affirmative hypothesis is accepted. It is concluded that the essential oil of *Schinus molle* L. leaves at concentrations of 10% and 20% has an antifungal effect in vitro against *Candida albicans*.

**Key word:** *Schinus molle*, essential oil, anti fungal, *Candida albicans*, antifungal effect, halo inhibition.

## CONTENIDO

AGRADECIMIENTO .....	iii
DEDICATORIA .....	iii
RESUMEN.....	iv
ABSTRAC .....	vi
I. INTRODUCCIÓN .....	1
II. REVISIÓN LITERARIA .....	6
2.1. Antecedentes .....	6
2.2. Bases teóricas.....	10
III. HIPOTESIS.....	14
IV. METODOLOGIA .....	15
4.1. Diseño de investigación .....	15
4.2. Población y Muestra.....	16
4.3. Definición de Operacionalización de variables.....	17
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	18
4.5. Plan de análisis.....	22
4.6. Matriz de consistencia.....	23
4.7. Principios éticos .....	24
V. RESULTADOS.....	25
5.1. Resultados .....	25
5.2. Análisis de resultados.....	26
VI. CONCLUSIONES.....	28
ASPECTOS COMPLEMENTARIOS .....	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
ANEXOS .....	40

## CONTENIDO DE TABLAS.

**Tabla 1**.....25

Comparar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* en concentraciones al 10 % y 20 % con el fluconazol frente a cepas de *Candida albicans*, mediante halos de inhibición en milímetros.

**Tabla 2**.....25

Evaluación del grado de sensibilidad de la *Candida albicans* frente al aceite esencial de hojas *Schinus molle L.* al 10 % y 20 % en comparación con el fluconazol, según escala de Duraffourd.

## CONTENIDO DE CUADROS.

**Cuadro 1:** .....42

Composición química de *Schinus molle L.* Determinada por algunos autores, utilizando espectrometría infrarroja y cromatografía gaseosa resumida por carrasco.

## I. INTRODUCCIÓN

Existen evidencias de que las plantas medicinales se han empleado a lo largo de toda la historia de la humanidad. Debido a esto la organización mundial de la salud (OMS) ha recomendado movilizar todos los recursos como medio legítimo para alcanzar la salud <sup>(1)</sup>.

En nuestro país existe una gran variedad de especies vegetales las cuales unas 5000 mil plantas son usadas como medicinales. A pesar de la riqueza y la variedad de la flora medicinal, el porcentaje de especies que poseen estudios fitoquímicos y farmacológicos son escasos. Por lo que es necesario crear un programa de propagación a nivel nacional para proveer materia prima en cantidad suficiente garantizando así la calidad desde su colecta, transporte, almacenamiento y venta al público <sup>(2)</sup>.

Los problemas de salud y la difícil consecución de los medicamentos sintéticos han llevado a la humanidad a la búsqueda de productos naturales, así como el conocimiento de las plantas medicinales como una de las medicinas alternativas que garantiza eficacia, seguridad y bajos costos. El 80% de la población mundial, más de cuatro millones de personas utilizan las plantas como remedio medicinal según la organización mundial de la salud <sup>(3,4)</sup>.

La medicina tradicional, en los últimos años ha cobrado importancia como terapia alternativa al uso de medicamentos sintéticos producidos en la industria farmacéutica, los cuales producen toxicidad, recurrencia o causan resistencia. El *Schinus molle L.*, es comúnmente llamado molle o aguaribay es nativo de América del Sur que pertenece

a la familia anacardiáceae, popularmente se ha utilizado como antibacteriano, antiviral, antiséptico, anti fúngico, antioxidante, antiinflamatorio, antiespasmódico, astringente, estimulante digestivo, tónico, diurético, cicatrización de heridas, infecciones del tracto urinario y respiratorio <sup>(5,6)</sup>.

El aceite esencial de Schinus molle no produce toxicidad en animales y humanos según Cuba R, en el 2008. Según estudios reportados, muestra una actividad antibacteriana contra cepas Gram (+) y Gram (-) llegando a la conclusión que estos tienen actividad inhibitoria frente a bacterias, hongos y levaduras. Los aceites esenciales son compuestos volátiles producidos como metabolitos secundarios de plantas, al menos 3000 se han identificado y 300 están comercialmente disponibles para la elaboración de perfumes, cosméticos, productos de limpieza, insecticidas, conservantes y aditivos de alimentos <sup>(7,8)</sup>.

Los aceites esenciales están descritos en diferentes farmacopeas y son usados en la industria farmacéutica, alimentaria y cosmética, son obtenidos de diferentes partes de las plantas como flores, hojas, corteza, tallo, frutos y raíces, químicamente son aromáticas que contienen monoterpenos, terpenos y sesquiterpenos, sustancias azufradas y nitrogenadas considerados metabolitos secundarios al igual que algunos alcaloides, flavonoides, taninos y saponinas <sup>(9)</sup>.

El carvacrol es un componente de los aceites esenciales de las plantas aromáticas, por lo que es referido que tiene propiedades biológicas antimicrobianas, antioxidantes. Su actividad antimicrobiana ha sido usada en bacterias patogénicas y algunos hongos <sup>(10)</sup>.

En la micosis sistémica, es una infección producida por el hongo que se inicia en la mucosa y/o órganos internos. El desarrollo de la enfermedad depende de factores que disminuyen las defensas del huésped debido a una depresión de la inmunidad celular que favorecen la proliferación de hongos especialmente de la candidiasis<sup>(11)</sup>.

La candidiasis es una infección micotica común, está presente en pequeñas cantidades en el organismo, esto ocurre cuando hay un desequilibrio en la acidez normal de la vagina y hormonal. Es la segunda causa más común de infección vaginal que afecta a mujeres entre 20 a 40 años. Aproximadamente el 75% de todas las mujeres adultas padecen un episodio en algún momento de su vida, y 45 tienden a desarrollar más de un cuadro, adquiriendo en muchos casos el 5-7% un carácter crónico debido a episodios recurrentes con poca respuesta a la terapia. Las probabilidades de contraer candidiasis aumentan en pacientes obesos y diabéticos, el consumo de antibióticos y anticonceptivos alteraciones hormonales debidas al embarazo<sup>(12)</sup>.

Durante las últimas décadas se ha logrado grandes adelantos en el tratamiento de las micosis superficiales, en forma tópica, sistémica o de ambas formas, ha mejorado el manejo de la patología. A pesar de lo anterior, la incidencia y prevalencia de las micosis ha seguido en aumento. El fluconazol es un anti fúngico oral con actividad fungistática contra dermatofitos, levaduras. Es bien tolerado y la hepatotoxicidad es infrecuente, por lo que, al elegir el agente terapéutico debe considerarse la edad del paciente, adherencia al tratamiento y costo<sup>(13)</sup>.

La candidemia es una infección con una elevada cifra entre el 40- 60% de mortalidad en los últimos años, debido a factores predisponentes en pacientes sometidos a trasplantes de progenitores, el uso de quimioterapias y la utilización de elevadas dosis de corticoides. Por lo que el desarrollo científico y tecnológico de la medicina alternativas a pacientes con esta patología <sup>(14)</sup>.

¿Presentara el aceite esencial de hojas de *Schinus mlle L.* efecto antimicótico in vitro frente a cepas de *Candida albicans*?

### **Objetivo general**

- Comprobar el efecto antimicótico in vitro de aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.*, frente a cepas de *Candida albicans*.

### **Objetivos específicos:**

- Comparar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* a concentraciones de 10 y 20% con el fluconazol frente a *Cándida albicans*.
- Evaluar el grado de sensibilidad de *Candida albicans* frente al aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* a concentración al 10 y 20 %, comparado con el fluconazol.

## II. REVISIÓN LITERARIA

### 2.1. Antecedentes

Saravia et al, de Perú en el año 2012, determinaron la actividad del extracto de etanol *Schinus molle* y fluconazol sobre *Candida albicans*, el estudio es experimental y transversal, la planta se recolecto en Huancavelica provincia de Junín de la Universidad Nacional de San Marcos. Se aplicó en disco en agar dextrosa sabouraud con extracto etanólico de hojas de *Schinus molle* donde mostraron actividad anti fúngica con 25µg/ml, con un halo de inhibición  $\geq 20$ mm, y el fluconazol con 25 µg/ml con un halo de inhibición de  $\geq 31$ mm. (p=0.0001) mostrando así actividad anti fúngica frente a cepas clínicas de *Candida albicans* ATCC 10231 <sup>(15)</sup>.

Llanos et al, de Perú en el 2012, un estudio estuvo orientado en la extracción de aceite esencial del fruto del *Schinus molle* L. de la Región Tacna, así como a la caracterización físico-química e identificación de los componentes principales de dicho aceite, probándose su actividad antimicótica ante *Penicillium italicum*. Las características físico-químicas del aceite esencial de Palos fueron: densidad (0,846 g/cm<sup>3</sup>), densidad relativa (0,847) y para el aceite esencial de Tarata: densidad (0,831 g/cm<sup>3</sup>), densidad relativa (0,832). Ambos aceites se analizaron por cromatografía de gases con detector FID, se identificaron los monoterpenos: limoneno,  $\alpha$ -pineno,  $\beta$ -pineno,  $\beta$ -mirceno, y  $\alpha$ -felandreno. Finalmente los aceites esenciales de molle inhibieron el desarrollo del hongo *Penicillium italicum* <sup>(16)</sup>.

Padin et al, de Argentina en el año 2015, estudiaron la caracterización y la determinación de la oleorresina de las bayas de *Schinus molle L.*, los resultados demuestran que el extracto etanolico de bayas del aguaribay inhibe el desarrollo de bacterias Gram positivas y negativas a partir de una concentración 2mg/ml y su composición química se realizó mediante cromatografía gaseosa espectrometría de masa (GC-MS) dando como resultado que posee un 40 % de hidrocarburos monoterpénicos y sesquiterpénicos, 34 % de alcoholes sesquiterpénicos <sup>(17)</sup>.

Rivadeneira et al, en Ecuador en el 2015, evaluaron el potencial antimicrobiano in vitro del aceite esencial de *Schinus molle L.*, comparada con el gluconato de clorhexidina al 0.12% sobre cepas de streptococcus mutans (ATCC25175), a concentración del 100 y 50% de aceite esencial de Schinus molle, con un efecto antimicrobiano frente a cepas de streptococcus mutans (ATCC 25175) con una significancia ( $p>0.05$ ) y el gluconato de clorexidina al 0.12% produjo mayor inhibición. Mientras que las concentraciones al 100 y 50% potenciaron su efecto en un 0.8% a las 72 horas, existiendo un potencial efecto antimicrobiano del aceite esencial de Schinus molle sobre la cepa bacteriana y en cuanto al gluconato de clorhexidina fue cualitativamente similar al aceite <sup>(18)</sup>.

Doleski et al, en Brasil en el 2015, realizaron un estudio con el objetivo de identificar la composición química del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle L.*, y correlacionar con las actividades biológicas de los principales compuestos localizados en la literatura, de los cuales diecinueve compuestos fueron separados y los principales eran biclogermacreno (20,5%), betacariofileno (19,7%) y estaptulenol (19,2%), por lo que concluyeron que se debe incrementar los estudios sobre las características

químicas y las actividades biológicas del aceite esencial de *Schinus molle*<sup>(19)</sup>.

Palacios et al, de Nuevo Chimbote Ancash de Perú en el 2015, evaluaron la cinética de extracción de aceite esencial de *Schinus molle*, evaluadas a dos caudales de vapor. El rendimiento de aceite esencial de dos materias primas evaluadas se adjuntan al modelo matemático de tipo exponencial, los modelos brindan una evolución cualitativa y aproximada del comportamiento de la cinética de extracción y del rendimiento del aceite esencial, por lo que los aceites esenciales tienen una importante demanda en la industria de alimentos, farmacéutica y de cosméticos <sup>(20)</sup>.

López et al, en Perú en el 2015, investigaron con el objetivo de conocer el rendimiento y composición química de aceites esenciales de hojas y frutos de *Schinus molle* del Valle Mantaro. Se usaron 15 kilos de material por especie, el método empleado fue por destilación por arrastre a vapor. Para determinar los componentes químicos se utilizó el método AOAC 2000. El tiempo promedio de destilación fue de 180 minutos. El rendimiento de aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* fue de 0.214 %, densidad promedio para hojas y fue de 0.838gr/cm<sup>3</sup> y los fitoconstituyentes de las hojas aceite de *Schinus molle L.*, son taninos 1.26%, alcaloides 0.09%, flavonoides 0.21%, esteroides 0.08% y terpenos 0.11% <sup>(21)</sup>.

Clemente et al, en Perú en el año 2017, trabajaron con el extracto etanolico de hojas de *Schinus molle* a concentraciones de 500 y 1000mg/ml, control positivo gluconato de clorhexidina 0.12%, control negativo con agua destilada con un tiempo de exposición de 48 y 72 horas con el objetivo de ver la actividad antimicrobiana del

extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* L. Con el método de difusión en disco con la técnica de siembra en superficie, demostrando tener actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175, por lo que el gluconato de clorhexidina produjo mayor inhibición, se concluye que el extracto etanolico de *Schinus molle* L. presenta actividad antimicrobiana sobre *Streptococcus mutans* (ATCC 25175 y el gluconato de clorhexidina <sup>(22)</sup>

## **2.2. Bases teóricas.**

### **Generalidades del uso de las plantas**

El tratamiento de enfermedades es una práctica ancestral a base de medicina tradicional debido a que poseen actividad antioxidante como el ácido cinámico, diterpenos, flavonoides, monoterpenos, taninos y triterpenos. Es por esto que las investigaciones se basan en plantas medicinales ya que tienen una fuente de principios activos que han posicionado para tener mejores alternativas terapéuticas de origen natural. Recientemente se han utilizado aceites esenciales extraídos mediante destilación por arrastre a vapor, a fin de obtener un producto más concentrado que pudiese exhibir mejor los efectos biológicos de estas plantas <sup>(23)</sup>.

Las plantas son fuentes de moléculas biológicamente activas debido a que producen diversos metabolitos secundarios con actividad anti fúngica como los flavonoides, fenoles, glucósidos de fenoles, saponinas <sup>(24)</sup>.

### **Schinus molle L.**

#### **Descripción botánica.**

El Schinus molle es un árbol de 3 a 8 metros de altura, de ramas péndulas. Las hojas tienen 20 a 35 folíolos opuestos subalternos sésiles, con inflorescencias terminales de flores pequeñas unisexuales, de color amarillo pálido. Los frutos tienen forma de drupa de color rosada o roja, con fuerte aroma a pimienta <sup>(25)</sup>.

### **Taxonomía de *Schinus molle* L.**

Reino: Plantae.

División: magnoliophyta.

Sub clase: Rosidae.

Orden: Sapindales.

Familia: Anacardiaceae.

Género: *Schinus*

Especie: *Schinus molle* L <sup>(26)</sup>.

### **Propiedades farmacológicas del *Schinus molle* L.**

Tiene actividad contra hongos y bacterias, la decocción o tintura de los tallos y hojas jóvenes, se emplea para lavar heridas, grietas de la piel y la sarna <sup>(25)</sup>.

### **Composición química del *Schinus molle* l.**

Según estudios Fito químicos contiene taninos, alcaloides, Flavonoides, saponinas esteroidales, esteroles, terpenos y aceite esencial <sup>(27)</sup>.

Las hojas de *Schinus molle* L., tiene un 2% de aceite esencial, según estudios en las hojas existen terpenoides en mayor cantidad <sup>(28)</sup>.

### **Aceites esenciales**

Son mezclas líquidas homogéneas de compuestos orgánicos volátiles que le confieren diversos aromas agradables producto del metabolismo secundario de las plantas, son insolubles en agua pero son solventes no polares <sup>(29)</sup>.

### **Composición química del aceite esencial.**

La composición del aceite esencial del *Schinus molle L*, es básicamente terpenos, siendo los mono terpenos de mayor abundancia. La composición química de los aceites esenciales extraídos de plantas aromáticas dependen de factores como: Geográficos (ubicación), ecológicos (hábitat), clima y la calidad de suelo, variabilidad genética (genotipo), la extracción específica de la parte de la planta (Raíz, fruto, hoja), el pre-tratamiento que se realice (lavado, secado) y el proceso de extracción <sup>(29)</sup>.

Los aceites esenciales, extraídos de varias plantas son usados para preservar alimentos y bebidas, han poseído un efecto inhibitorio sobre el desarrollo de microorganismos. Varios estudios han demostrado que las sustancias taninos (compuestos fenólicos) y terpenos poseen la capacidad de ser astringentes, hemostáticos y antisépticos <sup>(30)</sup>.

### **Mecanismo general de los aceites esenciales.**

Los aceites esenciales tienen efecto antimicrobiano, aunque el mecanismo de acción no es conocido por lo que está involucrado en la destrucción de la de la pared celular del microorganismo debido a que los constituyentes son lipofílicos <sup>(31)</sup>.

No se atribuye a un mecanismo específico, por consiguiente, el daño a la membrana citoplasmática, degradación de la pared celular, daño a las proteínas, filtración del contenido celular y disminución de la fuerza motriz. Una

característica importante de los aceites esenciales es su hidrofobicidad, la cual permite la separación de los lípidos de la membrana celular y la mitocondria, desordenando la estructura y haciéndola más permeable, lo que permite la filtración de los iones y células <sup>(32)</sup>.

*Candida albicans* es un patógeno fúngico oportunista en el tracto gastrointestinal y genitourinario, suele ser asintomática que causa infecciones en personas susceptibles aquellos que están inmunocomprometidos, esta infección puede variar desde una candidiasis local leve o invasiva grave en la que el hongo entra al torrente sanguíneo y en última instancia se propaga a otros órganos como el riñón, hígado y bazo <sup>(33)</sup>.

El hongo *Candida albicans* crece mejor en superficies húmedas, habitualmente vive en boca, sistema gastrointestinal, piel y vagina, considerados agentes infecciosos endógenos específicos, pero no son transmisibles y solo producen infección de la mucosa en presencia de unas predisposiciones locales o generales, considerados hongos oportunistas <sup>(34)</sup>.

### **III. HIPOTESIS.**

**H0:** El aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.*, no presenta efecto antimicótico in vitro frente a cepas de *Candida albicans*.

**H1:** El aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.*, presenta efecto antimicótico in vitro frente a cepas de *Candida albicans*.

## **IV. METODOLOGIA**

### **4.1. Diseño de investigación**

El presente trabajo de investigación es de tipo experimental cuantitativo y longitudinal.

#### **a. Grupo control:**

Consistió en agregar Dimetilsulfoxido (DMSO) al 5%, en 5 placas Petri, en un medio de cultivo agar sabouraud dextrosa.

#### **b. Grupo patrón:**

Consistió en agregar el fluconazol a 25ug/disco en 5 placas Petri, cada placa tuvo 4 discos de papel watman en un medio de cultivo de agar sabouraud dextrosa sobre cepas de *Candida albicans*.

#### **c. Grupo experimental 1: aceite esencial de Schinus molle al 10%**

Consistió en agregar el aceite esencial de hojas de *Schinus molle* a concentración al 10 %, diluido con Dimetilsulfoxido al 5%. En 5 placas Petri con cuatro discos de papel watman en un medio de agar sabouraud dextrosa.

#### **d. Grupo experimental 2: aceite esencial de Schinus molle al 20 %.**

Consistió en agregar el aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* en concentración al 20%, diluido con Dimetilsulfoxido al 5%, en 5 placas Petri con cuatro discos de papel watman en un medio de agar sabouraud dextrosa.

## **4.2. Población y Muestra.**

### **a) Población vegetal:**

La planta de *Schinus molle* L, fue recolectada del Centro Poblado Menor de Chuquibamba, Provincia de Cajabamba, Departamento de Cajamarca.

### **b) Muestra vegetal:**

Se trabajó con las hojas frescas de *Schinus molle* L, previamente seleccionadas, la extracción del aceite esencial se realizó por hidrodestilación empleando el equipo Clevenger marca ISOLAB.

#### **- Criterios de exclusión:**

Se excluyeron las hojas secas y en mal estado.

#### **- Criterios de inclusión:**

Se utilizaron las hojas verdes y frescas, sin plagas, bacterias y hongos patógenos.

Se trasladó desde su origen dentro de una caja de cartón grande de tal manera que no se malogre, previamente certificada.

### **c) Población Microbiológica.**

*La Candida albicans* se obtuvo de una cepa silvestre proporcionada por la universidad católica los ángeles de Chimbote - Filial-Trujillo.

#### d) Muestra microbiológica:

El aislamiento del hongo *Candida albicans*, se realizó con la técnica de Kirby - Bauer cultivada en agar Sabouraud dextrosa en placas Petri.

#### - Criterios de exclusión

Se excluyeron las cepas de *Candida albicans* más de 30 horas de exposición respectivamente de haberse cultivado.

#### - Criterios de inclusión.

Se utilizó la *Candida albicans*, previamente rejuvenecida.

### 4.3. Definición de operacionalización de variables.

Variables	Definición conceptual.	Definición de operacionalización	Indicadores de medición	Escala de medición
<b>Dependiente</b> Efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i> .	La <i>Candida albicans</i> es la que causa infecciones micóticas, forma halos de inhibición alrededor del disco durante la exposición de una sustancia antimicótica.	Se determinó a través de la medición de los halos de inhibición.	Medida de halos en milímetros (mm).	Variable cuantitativa de Razón
<b>Independiente</b> Aceite esencial del <i>Schinus molle L.</i>	Es la capacidad del aceite esencial de inhibir el crecimiento de hongo <i>Candida albicans</i> .	Se utilizó dos concentraciones de aceite esencial de <i>Schinus molle L.</i>	10 % p/v 20 % p/v DMSO.0.5 % p/v. 25ug fluconazol.	Variable cuantitativa nominal halos de inhibición.

#### **4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.**

##### **Obtención de la muestra.**

- La muestra de *Schinus molle* L, fue recolectada del Centro Poblado Menor de Chuquibamba, provincia de Cajabamba, departamento de Cajamarca, para luego obtener la certificación respectiva en el Herbarium de la Universidad Nacionalidad de Trujillo.
- Posteriormente se recolectaron las hojas frescas eliminando los microorganismos y hojas secas.

##### **Extracción del aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* L.**

Para obtener el aceite esencial de hojas de *Schinus molle* L, se realizó por el método de hidrodestilación en el equipo de Clevenger de marca ISOLAB, en el laboratorio de Farmacia y Bioquímica de la Universidad católica los Ángeles de Chimbote – Filial Trujillo. La hidrodestilación es llevar a un estado de ebullición, de tal manera que los vapores generados pueden ser condensados y colectados, el aceite es inmiscible en agua, se separa posteriormente. Se usaron 400g de hojas frescas de *Schinus molle* L, al enfriar forman dos fases: superior (aceite esencial) e inferior (agua), luego separamos el aceite del agua. Ver en anexo de figura N 6.

Obteniendo 5 ml de aceite esencial de hojas de *Schinus molle* L., el cual se colocó en un frasco color ámbar y puesto en refrigeración hasta su uso. Luego se realizó la identificación de las características físicas y organolépticas del aceite de *Schinus molle* L. ver en anexo de cuadro N 3.

### **Etapa de intervención.**

Se realizó en el laboratorio de microbiología de la Universidad Los Ángeles de Chimbote – filial Trujillo, se obtuvo los materiales y la esterilización de materiales, la *Candida albicans* fue cultivada en agar sabouraud, Luego se colocó en la estufa a 37°C, a las 24 horas se midieron los halos de inhibición y finalmente la desinfección de los materiales y devolución.

### **Preparación del estándar 0.5 de Mac Farland.**

El estándar de Mac Farland se usa como referencia bacteriológica para saber que el número de bacterias por mililitro o es una escala que va de 0.5 a 10. Se preparó el estándar al 0,5 Mac Farland en 10ml. Agregamos 0,05 ml de sulfato de bario al 1% mas 9,95 ml de ácido sulfúrico al 1%. Mezclamos con ayuda de un espectrofotómetro (a 530nm de longitud de onda), ajustando a una densidad óptica hasta alcanzar la turbidez del tubo N 0.5 de la escala de Mac Farland con una absorbancia de 0,08-0,20nm, la cual equivale a la concentración aproximada de  $1,5 \times 10^8$  UFC/mL UFC= unidad formadora de colonias. Luego sellar y guardar hasta el momento del cultivo. Antes de usar el patrón de turbidez se agita vigorosamente de tal manera que se vea a una luz adecuada.

### **Preparación del medio de cultivo (Agar sabouraud dextrosa).**

La *Candida albicans*, se cultivó en Agar Sabouraud Dextrosa medicado con cloranfenicol.

\*Pesar 65g de Agar sabouraud Dextrosa medicado, se disuelve en 1 litro de agua destilada.

\*Colocar a la cocina, calentar y agitar hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo, luego retirar dejándolas que solidifiquen unos 30 minutos.

\*Esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.

\*Apagar autoclave e enfriar hasta 45 a 50°C, colocar 25 ml de agar saboraud en cada placa Petri estéril.

\*Dejar enfriar e invertir las placas para que no caigas las gotas de agua a la superficie del medio, luego con plumón identificamos cada una de las placas Petri. Finalmente llevamos a incubación a 37°C en la estufa. Ver anexo de figura N 7.

### **Rejuvenecimiento de la cepa *Candida albicans*.**

El medio de cultivo fue en Agar dextrosa sabouraud medicado, la *Candida albicans* fue aislada para rejuvenecerse, donde agregamos 5 ml de solución salina fisiológica en un tubo de ensayo, tomar una cantidad de cepas de *Candida albicans*, mediante un hisopado de cultivo fresco de *Candida albicans* de 24 horas de exposición, ajustándose a una densidad óptica alcanzando a una concentración aproximada de  $1 \times 10^8$  UFC/ml UFC= Unidad formadora de colonias mediante visión directa. La siembra se realizó en placas Petri, con la ayuda de un hisopo en 4 direcciones dejando incubar a una temperatura de 37°C durante 24 horas de exposición para ver el crecimiento del hongo. Ver en anexo de figura N 9.

### **Preparación de las concentraciones del aceite esencial.**

- Se prepararon dos concentraciones de aceite esencial de *Schinus molle* L, con el diluyente Dimetilsulfoxido al 5%, a 1 ml de volumen.

- Para la concentración al 10%, se agregó 0.1ml de aceite esencial de Schinus molle L, y 0.9 ml de Dimetilsulfoxido al 5%.
- Para la concentración del 20%, se agregó 0.2 ml de aceite esencial de Schinus molle L, y 0.8 de Dimetilsulfoxido al 5%.

<b>Aceite esencial (volumen)</b>	<b>Dimetilsulfoxido (DMSO)</b>	<b>Volumen final</b>	<b>Concentración (%)</b>
0.1 ml	0.9 ml	1 ml	10 %
0.2 ml	0.8ml	1 ml	20 %

#### **Sembrado de *Candida albicans* en las placas Petri.**

Se preparó una solución estéril con *Candida albicans* estandarizado a la escala de Mac farland a una concentración de  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml. Expandiéndola mediante el método de difusión en agar (kirby – Bauer). Divididos en 4 grupos, un grupo control con Dimetilsulfoxido, un grupo estándar con fluconazol y dos grupos experimentales de aceite esencial de Schinus molle L, (con 5 placas Petri cada grupo), siendo un total de 20 placas Petri. Ver en anexo N 11 – 12. Para la inoculación de las sustancias se utilizó un micro pipeta graduada de 10 uL, cada disco de papel Wathman contenía 0.2 uL. Ver en anexo de figura N 13.

#### **Incubación de las placas de estudio.**

Las placas se colocaron a la estufa a una temperatura de 37°C durante 24 y 48 horas de exposición. Finalmente se procedió a medir el efecto a través de los halos de inhibición (milímetros) contra *Candida albicans*, durante las 24 y 48 horas de exposición,

utilizando hoja milimetrada (mm). Tomando como referencia las pautas establecidas por Duraffourd en 1983, utilizadas en estudios microbiológicos.

**Nula:** (- =) inferior o igual a 8 mm; **Sensible:** (= +) de 9 a 14mm; **Muy sensible:** (=++) de 15 a 19mm; **Sumamente sensible:** (=+++)  
igual o superior a 20 mm.

#### **4.5. Plan de análisis**

Para el análisis estadístico se utilizó la media y desviación estándar de los grupos de estudios a concentraciones de 10 %, 20 % del aceite esencial de *Schinus molle L.* La significancia se determinó mediante el programa ANOVA a un 95% de confianza, y un error del 5%, por consiguiente dar a conocer el efecto antimicótico del aceite esencial de hojas de *Schinus molle* frente a *Candida albicans*.

#### 4.6. Matriz de consistencia.

Título de la investigación	Formulación del problema	Objetivos	Hipótesis	Tipo y diseño de investigación	Variables	Definición operacional	Indicadores de escala	Plan de análisis
Efecto antimicótico in vitro de aceite esencial de hojas de <i>Schinus molle</i> L. frente a cepas de <i>Candida albicans</i> .	¿El aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L. presenta efecto antimicótico in vitro frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ?	<p><b>General:</b></p> <p>Determinar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de hojas de <i>Schinus molle</i> L. frente a cepas de <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Específicos:</b></p> <p>-Comparar el efecto antimicótico in vitro del aceite de hojas de <i>Schinus molle</i> L. a concentraciones de 10 y 20% con el fluconazol frente a cepas de <i>Cándida albicans</i>.</p> <p>-Evaluar el grado de sensibilidad de <i>Candida albicans</i> frente al aceite esencial de hojas de <i>Schinus molle</i> L. al 10 % y 20 % comparado con el fluconazol.</p>	<p><b>H0:</b> El aceite esencial de hojas de <i>Schinus molle</i> L. no presenta efecto antimicótico in vitro frente a cepas de <i>Candida albicans</i></p> <p><b>H1:</b> El aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L., presenta efecto antimicótico in vitro frente a cepas de <i>Candida albicans</i>.</p>	La presente investigación de tipo experimental, cuantitativo y longitudinal.	<p><b>Dependiente</b></p> <p>Efecto antimicótico frente a <i>Candida albicans</i>.</p> <p><b>Independiente</b></p> <p>Aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L.</p>	<p>Se determinó al medir el diámetro de halos de inhibición en milímetros.</p> <p>Concentración del aceite esencial de las hojas de <i>Schinus molle</i> L.</p>	<p>Variable Cuantitativa de Razón.</p> <p>Variable cuantitativa nominal</p>	Se determinó la significancia mediante la prueba de ANOVA y grado de sensibilidad según escala Duraffourd

#### 4.7. Principios éticos <sup>(35)</sup>.

El presente trabajo de investigación, se realizó respetando la normativa legal y los principios éticos cumpliendo los procesos establecidos de acuerdo a las normas de bioseguridad de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

- **Protección a las personas:** La persona en toda investigación, necesitan cierto grado de protección, el cual se determina el riesgo en que incurran y la probabilidad de obtengan un beneficio. Respetando la dignidad humana, la identidad, la diversidad, la confidencialidad y la privacidad.
- **Beneficencia y no maleficencia.** Se debe asegurar el bienestar de las personas que participan en las investigaciones.
- **Justicia.** El investigador debe ejercer un juicio razonable, ponderable y tomar las precauciones necesarias para asegurarse de que sus sesgos, y las limitaciones de sus capacidades y conocimiento, no den lugar o toleren prácticas injustas.
- **Integridad científica.** Se rige no solo a la actividad científica de un investigador, sino que debe extenderse a sus actividades de enseñanza y a su ejercicio profesional.
- **Consentimiento informado y expreso.** En toda investigación se debe contar con la investigación de voluntad, informada, libre, inequívoca y específica; mediante la cual las personas investigadores consienten el uso de la información para lo fines específicos establecidos en el proyecto.

## V. RESULTADOS

### 5.1. Resultados

**Tabla 1.** Comparar el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* en concentraciones al 10 % y 20 % con el fluconazol frente a cepas de *Candida albicans*, mediante halos de inhibición en milímetros

Grupos	Halos de inhibición (mm)			
	A las 24 horas	Significancia (p)	A las 48 horas	Significancia(p)
Dimetilsulfoxido (DMS) 5%	06.00 mm ± 0.00		06.00mm ± 0.00	
Fluconazol a 25 ug/ml	27.00mm ± 2.635		28.58mm ± 4.27	
Aceite Esencial 10%	17.1mm± 0.938	P= 0.00*	18.4mm ±0.094	P= 0.00**
Aceite Esencial 20%	17.15mm±1.063		19.4mm ±0.282	

\* \* P<0.01, según prueba ANOVA

<sup>a</sup> DMSO: Dimetilsulfóxido

**Tabla 2.** Evaluación del grado de sensibilidad de la *Candida albicans* frente al aceite esencial de hojas de *Schinus molle L.* al 10 % y 20 % en comparación con el fluconazol, según escala de Durafford

Grupos de estudio	Sensibilidad
Control Negativo (DMSD)	Nula
Control estándar (fluconazol)	Sumamente Sensible
Aceite Esencial 10%	Muy Sensible
Aceite Esencial 20%	Muy Sensible

**Nula:** (- =) inferior o igual a 8 mm; **Sensible:** (= +) de 9 a 14mm; **Muy sensible:** (=++) de 15 a 19mm; **Sumamente sensible:** (=+++ ) igual o superior a 20 mm.

## 5.2. Análisis de resultados.

La importancia del presente estudio es debido a que Perú tiene una biodiversidad de plantas aromáticas, las cuales son aprovechadas, una clara alternativa es el *Schinus molle* L, un árbol nativo cuyo aceite esencial presenta propiedades insecticidas, antibacterianas y anti fúngicas, demostrando un amplio espectro <sup>(36)</sup>.

La tabla 1, se observa el efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de las *Schinus molle* L., contra *Candida albicans*, de manera que el aceite al 10 % tiene 18.4 mm y el 20 % de aceite tuvo un 19.4 mm halos de inhibición respectivamente. Por lo que las plantas son fuentes de moléculas biológicamente activas debido a que producen diversos metabolitos secundarios con actividad anti fúngica como los flavonoides, fenoles, glucósidos de fenoles y saponinas <sup>(24)</sup>.

Sin embargo en la tabla 2, comparamos que la concentración del aceite esencial al 20 % frente a *Candida albicans* durante las 24 y 48 horas, el diámetro fue de 17.15 mm y 19.4 mm de halos de inhibición respectivamente, observándose un mayor efecto a diferencia que la concentración del aceite de *Schinus molle* al 10 %, debido a que existe una mayor concentración del aceite y una mejor absorción debido a que el aceite esencial es una sustancia lipofílica. El mecanismo de acción no es conocido por lo que está involucrado en la destrucción de la de la pared celular del microorganismo.

Se reconoce que los aceites esenciales dependen de sus propiedades lipofílicos, siendo los terpenoides, los cuales afectan la actividad de las enzimas catalizadoras a nivel de la membrana que actúan desacoplando que interfieren en la translocación de protones

de la membrana. Se han reportado que algunos aceites esenciales pueden ser más efectivos que los agentes sintéticos (antimicóticos) <sup>(37)</sup>.

En la tabla 2, se observa que la prueba de ANOVA al comparar los tres grupos nos muestra un nivel de significancia de 0.01, es decir el valor P es menor que alfa (0.05) por lo que rechaza  $H_0$  y acepta  $H_1$ , es decir existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de experimentación. Según Saravia et al, en el 2012 menciona que el extracto de hojas de Schinus molle mostro actividad anti fúngica con 25 ug/ml, con un halo de inhibición  $\geq 20$ mm, y el fluconazol con 25ug/ml con un halo de inhibición de 31 mm ( $p=0.0001$ ), frente a *Candida albicans* <sup>(15)</sup>.

En la tabla 3, el aceite esencial de Schinus molle L tuvo efecto antimicótico contra *Candida albicans*, al utilizar las diferentes concentraciones, en relación es directamente proporcional a las concentraciones a mayor concentración mayor efecto, con respecto a los halos de inhibición, según escala de Durafford, logro ser muy sensible a diferencia del grupo estándar fluconazol que logro ser sumamente sensible, y el grupo control (Dimetilsulfoxido) no presento efecto anti fúngico frente a *Candida albicans*.

Según Cantón et al, a medida que la industria farmacéutica se está introduciendo en el mercado nuevas formulaciones en la cual se necesita realizar ensayos para estandarizar pruebas de sensibilidad de anti fúngicos en levaduras de *Candida albicans* con el fin de comparar la actividad farmacológica <sup>(38)</sup>.

## VI. CONCLUSIONES.

- ✓ El aceite de hojas de *Schinus molle* L, presenta efecto antimicótico in vitro frente a cepas de *Candida albicans*.
  
- ✓ El aceite esencial de hojas de *Schinus molle* L a concentraciones de 10 % y 20 % presento menor efecto antimicótico in vitro comparado con el Fluconazol frente a *Candida albicans*.
  
- ✓ Según la escala Duraffourd, el aceite esencial de *Schinus molle* L, en concentraciones al 10 % y 20%, es muy sensible a diferencia del Fluconazol que es sumamente sensible, frente a *Candida albicans*.

## ASPECTOS COMPLEMENTARIOS

- ✓ Se recomienda realizar más estudios sobre su composición química y sus propiedades farmacológicas del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L*, contra microorganismos fúngicos, con la único interés de tener una alternativa en los tratamientos contra infecciones fúngicas.
- ✓ En futuros estudios se recomienda aumentar la concentración del aceite esencial de hojas de *Schinus molle L*, para alcanzar un mejor efecto antimicótico, igual que un fármaco antimicótico comprobado contra *Candida albicans*.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Villavicencio M., Pérez B, Plantas útiles del estado de hidalgo volumen 3, universidad autónoma del estado de Hidalgo, México 2006, [Internet], citado el 09 denoviembredel2018,disponibleen[https://books.google.com.pe/books?id=WXXZ5JxDtL0C&pg=PA18&dq=plantas+medicinales+en+la+antiguedad&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiQl\\_3P3cjeAhUJylMKHcwuBuYQ6AEINzAD#v=onepage&q=plantas%20medicinales%20en%20la%20antiguedad&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=WXXZ5JxDtL0C&pg=PA18&dq=plantas+medicinales+en+la+antiguedad&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiQl_3P3cjeAhUJylMKHcwuBuYQ6AEINzAD#v=onepage&q=plantas%20medicinales%20en%20la%20antiguedad&f=false)
2. Osuna L, Aguilar A, Tapia M, Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales, editorial universidad de Barcelona México2005,citadoel9/11/2018,disponible:[https://books.google.com.pe/books?id=KxixiKJ9Q\\_LMC&pg=PA17&dq=estudios+de+plantas+medicinales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjkv8Ha5sjeAhVBzVMKHZQXck0Q6AEILjAC#v=onepage&q=estudios%20de%20plantas%20medicinales&ffalse](https://books.google.com.pe/books?id=KxixiKJ9Q_LMC&pg=PA17&dq=estudios+de+plantas+medicinales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjkv8Ha5sjeAhVBzVMKHZQXck0Q6AEILjAC#v=onepage&q=estudios%20de%20plantas%20medicinales&ffalse).
3. Fonnegra R, Jimenez R, funnegra G, Silvia L, Plantas medicinales aprobadas en Colombia, 2ª edición. Editorial universidad de Antioquia 2007, [internet], Citado 9/11/2018,Disponibleen:[https://books.google.com.pe/books?id=K8eI7ZeFpsC&pg=PR11&dq=plantas+medicinales+en+la+antiguedad&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiQl\\_3P3cjeAhUJylMKHcwuBuYQ6AEIMTAC#v=onepage&q=plantas%20medicinales%20en%20la%20antiguedad&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=K8eI7ZeFpsC&pg=PR11&dq=plantas+medicinales+en+la+antiguedad&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiQl_3P3cjeAhUJylMKHcwuBuYQ6AEIMTAC#v=onepage&q=plantas%20medicinales%20en%20la%20antiguedad&f=false)

4. Escalona L, Aguilar A, Estrada A, Almaguer M, Artículo: Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba, Guisa, Granma, revista cubana de Plantas Medicinales Cuba 2015. Citado el 07/12/ 2018. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v20n4/pla07415.pdf>
  
5. Zuni J, Tesis: Actividad antibacteriana “in vitro” del aceite esencial de menta (*mentha piperital*. frente a *escherichia coli* enteropatógena (EPEC), Universidad Nacional del Altiplano, citado el 24/11/2018, Perú año 2017 disponible en [http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4194/Zuni\\_Mamani\\_Jhonny.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4194/Zuni_Mamani_Jhonny.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  
6. Doleski P, Ferreira C, Brondanil J, Palermo M, revista Cubana de farmacia: Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Schinus molle* L. Brazil 2015, Citado, el 5/11/2018, Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubfar/rcf-2015/rcf151m.pdf>
  
7. Alva A, Bonilla P, Arroyo J, actividad cicatrizante de una pomada con aceite esencial de *Schinus molle* L, en ganado vacuno con heridas infectadas y en ratones, instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales “Juan de Dios Guevara” Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad nacional mayor de San Marcos, laboratorio de farmacología, facultad de medicina, Universidad nacional mayor de sanmarcos 2009, citado el 26/11/2018 Disponible en <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/farma/article/viewFile/3384/450>

8. Velandia S, flechas M, Stashenko E, propuesta para seleccionar aceites esenciales de plantas de Colombia para investigación con base en su citotoxicidad, Revista de la facultad de ciencias farmacéuticas y alimentarias, Volumen 23, Universidad de Antioquia, Colombia 2016, Disponible: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v23n1/v23n1a3.pdf>
9. Ponce J, Guadalupe L, Arana C, estudio bromatológico de *rosmarinus officinalis* L, romero y obtención del aceite esencial, Edición impresa: ISSN 1561-0861 Edición electrónica: ISSN 1609-9044, Universidad nacional mayor de san marcos 2015, Citado el 05/11/2018. Disponible en: <file:///C:/Users/DATOS/Downloads/13599-46942-1-PB.pdf>
10. Quintanilla J, Efecto antibacteriano in vitro del carvacrol (aceite de orégano) sobre *candida albicans*, Revista de Investigación de la Universidad Norbert Wiener, 2016, citado el 07/12/2018, Disponible en: [https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista\\_5/3\\_EFECTO%20ANTIBACTERIANO%20IN%20VITRO%20DEL%20CARVACROL.pdf](https://intranet.uwiener.edu.pe/univwiener/portales/centroinvestigacion/documentacion/revista_5/3_EFECTO%20ANTIBACTERIANO%20IN%20VITRO%20DEL%20CARVACROL.pdf)
11. Guerra A, Manual y atlas de las enfermedades de la vulva, editorial Glosa, Barcelona 2006, [citado] el 27 de junio del 2018, Pag 98, 79, Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=F1Vrj0WrtW8C&pg=PA78&dq=micosis+u+hongos&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiVmQWg4vTbAhVGmlkKHUzbBgkQ6AEISDAG#v=onepage&q=micosis%20u%20hongos&f=false>.

12. Andrade M, Ramos M, Pizarro M, Mojica M, Pereira N, Solis N, Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital, Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Javier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre - Bolivia. Sucre 2014, Citado el 08 de diciembre del 2018. Disponible en [http://www.ecorfan.org/bolivia/series/Topicos%20Selectos%20de%20Quimica\\_I/Articulo%205.pdf](http://www.ecorfan.org/bolivia/series/Topicos%20Selectos%20de%20Quimica_I/Articulo%205.pdf)
  
13. Valdés M, Nuevos antimicóticos orales: Alternativas en el tratamiento de las micosis superficiales, hospital clínico universidad de Chile, Revista Chilena infectología 2000, Citado el 26/12/2018, disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v17n2/art13.pdf>.
  
14. Gómez A, Lozano M, Hurtado C, Tesis doctoral: Etiología epidemiología y factores de virulencia en *Candida* spp aislados de hemocultivos. 2014, citado el 07 de diciembre del 2018. Disponible en: [http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/1684/TDUEX\\_2014\\_Blanco\\_Blanco.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://dehesa.unex.es/bitstream/handle/10662/1684/TDUEX_2014_Blanco_Blanco.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
  
15. Saravia N, Guillinta G, actividad anti fúngica del extracto de etanol *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*, universidad de San Martín de Porres, Lima, Perú 2012, [citado en junio 2018], Disponible en: [http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2012/Kiruv.9/Kiru\\_v.9\\_Art6.pdf](http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2012/Kiruv.9/Kiru_v.9_Art6.pdf)

16. Llanos S, Extracción y caracterización del aceite esencial de molle (*Schinus molle* L, Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna Perú 2012, citado el 15 de mayo del 2016], Disponible en [http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/121/14\\_Llanos\\_ArapaSK\\_FCAG\\_IndustriasAlimentarias\\_2012.pdf?sequence=1](http://tesis.unjbg.edu.pe:8080/bitstream/handle/unjbg/121/14_Llanos_ArapaSK_FCAG_IndustriasAlimentarias_2012.pdf?sequence=1)
  
17. Padin E, obtención, caracterización y determinación de la actividad antimicrobiana de la oleorresina de las bayas de Aguaribay (*Schinus molle* Linneo), Tesis de doctorado, Universidad Nacional de Quilmes, Argentina 2015, Internet, citado el 7/1/2018, Disponible en [http://ridaa.unq.edu.ar/bitstream/handle/20.500.11807/646/TD\\_2015\\_padin\\_008.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://ridaa.unq.edu.ar/bitstream/handle/20.500.11807/646/TD_2015_padin_008.pdf?sequence=1&isAllowed=y).
  
18. Rivadeneira D, Álvarez P, Potencial biosida del aceite esencial de *Schinus molle* L, (molle) frente al gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre *Streptococcus mutans*, principal agente cariogénico estudio *in vitro*, Proyecto de investigación, Ecuador 2015, Pág 18, Internet, citado el 02 de octubre 2018, disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec:8080/bitstream/25000/4982/1/T-UCE-0015-164.pdf>
  
19. Doleski M, Ferreira C, Calil B, Palermo M, Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Schinus molle* L, Revista Cubana de farmacia Brasil 2015, Citado: 12/07/2018, Disponible en <http://www.medigraphic.com/pdfs/revcubfar/rcf-2015/rcf151m.pdf>.

20. Palacios L, Castillo W, Modelamiento de extracción del aceite esencial de *Aloysia citriodora* y *Schinus molle*, *Revista ingeniería: Ciencia, Tecnología e innovación* Volumen 2, N°2, Perú 2015, Pág. 14 [Internet], Citado el 12 de julio del 2018. Disponible en: [file:///C:/Users/DATOS/Downloads/254-955-1-PB%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/DATOS/Downloads/254-955-1-PB%20(1).pdf).
21. López R, Caso N, Tesis: Rendimiento y composición química de aceites esenciales de *eucaliptus archeri* y en hojas y frutos de *Schinus molle* provenientes - Valle Mantaro, Perú 2015, Citado el 07 de diciembre del 2018, disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/3508/Lopez%20De%20La%20Cruz%20-%20Caso%20Orihuela.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
22. Clemente CL, Paucar R, Tesis Actividad antimicrobiana del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle*, Universidad Wiener. Perú 2017, Citado el 08/12/2017, disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/530/TITULO%20%20Clemente%20Sotteccani%2c%20Claudia%20Elizabeth.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
23. Barragán V, García L, Mateus L, Mateus L, Rodríguez F, Aceites esenciales, obesidad y diabetes tipo 2, *Revista colombiana cienc. quim. farm.* [Internet], 2017 Dec [cited 2018 Dec 07]; 46(3):289-302. Available from: Disponible en: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S003474182017000300289&lng=en](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003474182017000300289&lng=en). <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v46n3.69459>.

24. Davicino R, Mattar M, Casali Y, Correa S, Pettenati E, Micalizzi Blas, Actividad anti fúngica de extractos de plantas usadas en medicina popular en Argentina, Revista Perúbiología, 2007, citado 2018 Dic 07, 14(2):247252, Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S172799332007000300011&lng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S172799332007000300011&lng=es).
25. Restrepo M, Quintero P, Fraume N, Manual: El milagro de las plantas: aplicaciones medicinales y orofaríngeas, fundación Hogares juveniles Campesinos, Colombia 2005, Citado el 13 de diciembre del 2018, Disponible: [https://books.google.com.pe/books?id=ss3tcgKqh\\_UC&pg=PT96&dq=schinus+molle&hl=es&sa=X&ved=0ahUKewj9jLrwj57fAhWKxVvKHZfBChY4ChDoAQgpMAA#v=onepage&q=schinus%20molle&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=ss3tcgKqh_UC&pg=PT96&dq=schinus+molle&hl=es&sa=X&ved=0ahUKewj9jLrwj57fAhWKxVvKHZfBChY4ChDoAQgpMAA#v=onepage&q=schinus%20molle&f=false).
26. Ayala A, Establecimiento de cultivo in vitro de molle (*Schinus molle* L) a partir de yemas axilares tomadas de plantas madre como una herramienta para la propagación de la especie en el distrito metropolitano de Quito, editorial Sangolquí/espe/2011, Ecuador. 2011. Disponible en: <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/4734/1/T-ESPE-032803.pdf>.
27. Zambrano M, Tesis doctoral: Caracterización de levaduras causantes de fungemia: identificación y sensibilidad anti fúngica, epidemiología molecular y factores de patogenicidad, Universidad Complutense de Madrid 2018, Citado el 8 de diciembre del 2018. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/46470/1/T39591.pdf>.

28. Chirino M, Carriac M, Ferrero A, Actividad insecticida de extractos crudos de drupas de *Schinus Molle* L, (*Anacardiaceae*) sobre larvas neonatas de *Cydia Pomonella* L, (*Lepidoptera: Tortricidae*), Universidad Nacional del Sur, San Juan-Argentina.2001.Disponible en <https://www.miteco.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/plagas/bsvp-27-03-305-314.pdf>.
29. Tineo F, Estudio experimental y modelamiento matemático para el proceso de extracción por lotes por arrastre con vapor de agua de aceite esencial libre del *Schinus molle* linneo, Tesis de la universidad nacional de ingeniería, Lima- Perú 2012,Citado el 26/12/2018,disponible en:[http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/3724/1/tineo\\_cf.pdf](http://cybertesis.uni.edu.pe/bitstream/uni/3724/1/tineo_cf.pdf)
30. Bello R, Informe de la tercera consulta de expertos sobre tecnología de productos pesqueros en América Latina, Venezuela 1994, citado 02 octubre 2016], disponible en [https://books.google.com.pe/books?id=\\_gbbihldyy0c&pg=pa75&dq=mecanismo+de+accic3%b3n+del+aceite+esencial+sobre+los+microorganismos.&hl=es&sa=x&ved=0ahuKewjajxs\\_lzpahvifh4khri5cm8q6aeigjaa#v=onepage&q=mecanismo%20de%20accic3%b3n%20del%20aceite%20esencial%20sobre%20los%20microorganismos.&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=_gbbihldyy0c&pg=pa75&dq=mecanismo+de+accic3%b3n+del+aceite+esencial+sobre+los+microorganismos.&hl=es&sa=x&ved=0ahuKewjajxs_lzpahvifh4khri5cm8q6aeigjaa#v=onepage&q=mecanismo%20de%20accic3%b3n%20del%20aceite%20esencial%20sobre%20los%20microorganismos.&f=false).
31. Lado C, Then M, Varga I, Szoke E, Szentmihályi K, Antioxidant property of volatile oils determined by the ferric reducing ability, *J biosci (Z Naturforsch C)*, 2004, 59:3548.

32. Garcia R, Palau E, mecanismos de acción antimicrobiana de timol y carvacrol sobre microorganismos de interés en alimentos, México 2008, disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2\(2\)-Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No2-Vol-2/TSIA-2(2)-Garc%C3%ADa-Garcia-et-al-2008a.pdf)
33. Besold A, Gilston Be, Radin J, Ramsomair Ch, Culbertson E, Cormack B, Chazin W, Kehl-Fie, Culotta V. Role of Calprotectin in Withholding Zinc and Copper from *Candida albicans*, Volume 86.i American Society for Microbiology, 2018, citado el 22/11/2018. Disponible en: <https://iai.asm.org/content/iai/86/2/e00779-17.full.pdf>
34. Geilfus F, El árbol al servicio del agricultor, Manual de agropecuaria para el desarrollo rural, Volumen 2, Editorial guía de especies, Costa Rica 1994, [internet]. Citado el 10 de julio 2018. Disponible en <https://books.google.com.pe/books?id=xCMOAQAIAAJ&pg=PA461&dq=descripcion+del+Schinus+molle&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwj2M7yvZXcAhVM11MKHbfWCH0Q6AEIKzAB#v=onepage&q=descripcion%20del%20Schinus%20molle&f=false>.
35. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Comité institucional de ética para la investigación, versión 001, aprobado por el consejo universitario con resolución N°0108/2016 ULADECH/Católica. Chimbote, Perú 2016, citado el 31/diciembre/2018, disponible <https://www.uladech.edu.pe/images/stories/universidad/documentos/2016/codigo-de-etica-para-la-investigacion-v001.pdf>

36. Moncada V, Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Schinus molle* L, de Arequipa y Moquegua contra *Klebsiella Pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus*, Arequipa-Perú 2013, disponible <https://core.ac.uk/download/pdf/54221003.pdf>.
37. Cano C, actividad antimicótica in vitro y metabolitos del aceite esencial de las hojas de *Minthoschys mollis* (molle), revista Peru Med Exp salud publica 2008, citado el 31 de enero de diciembre del 2018, disponible en <http://www.scielo.org.pe/pdf/rins/v25n3/a08v25n3>
38. Cantón E, Martín E, Espinel A, Métodos de estandarización por el CLSI para estudios de sensibilidad a los anti fúngicos, Citado el 11 de diciembre del 2018 del 2018, disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>

## ANEXOS

**Tabla 1:** Media y desviación estándar del grupo control Dimetilsulfoxido durante las 24 y 48 horas de exposición después cultivo.

	24H		48H	
	MEDIA	DS	MEDIA	
PS 01	6	0	6	
PS 02	6	0	6	
PS 03	6	0	6	
PS 04	6	0	6	
PS 05	6	0	6	
	6		6	

(\*) DIMETILSULFÓXIDO AL 5%

**Tabla 2:** Media y desviación del grupo control estándar fluconazol 25ug durante las 24, 48 horas.

FLUCONAZOL	24H		48H	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS
PS 01	26.5	4.12310563	28.5	6.65832812
PS 02	30	4.89897949	33.65	5.76974869
PS 03	25	1.15470054	28	2.44948974
PS 04	26	0	28.375	3.49702254
PS 05	27.5	3	24.9	3.48903043
	27	2.63535713	28.685	4.37272391

(\*)FLUCONAZOL 25 ug/DISCO

**Tabla 3:** Media y desviación del grupo experimental 1 al 10% del aceite esencial de *Schinus molle L.*

Aceite esencial al 10%	24H		48H	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS
PS 01	17.5	0.57735027	18.25	0.4330127
PS 02	17	0.81649658	18	1.22474487
PS 03	16.75	0.5	17.5	0.5
PS 04	17.5	1.29099445	19.5	0.8660254
PS 05	16.75	0.95742711	18.75	1.29903811
	17.1	0.93808315	18.4	0.09424337

**Tabla 4:** Media y desviación estándar del grupo experimental 2 al 20 % de aceite esencial de hojas de *Schinus molle*.

Aceite esencial al 20 %	24H		48H	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS
PS 01	18.25	2.62995564	20	1.632
PS 02	17.25	1.70782513	19	1.154
PS 03	16.25	1.70782513	18.75	1.5
PS 04	18.5	1.29099445	21	1.154
PS 05	15.5	29099445	18.25	1.258.
	17.15 17.15	1.06301458	19.4	0.282

**Tabla 6:** Datos válidos según criterio de normalidad

	Casos					
	Válidos		Perdidos		Total	
	N	Porcentaje	N	Porcentaje	N	Porcentaje
H24	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%
H48	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%
H72	20	100.0%	0	.0%	20	100.0%

### Anexos de cuadros.

**Cuadro 1:** Composición química de *Schinus molle* L. Determinada por algunos autores, utilizando espectrometría infrarroja y cromatografía gaseosa resumida por carrasco.

Parte utilizada	Composición química	referencia
corteza	Ácido linoléico, ácido eurístico, ácido lignocérico.	Diamanto Glous y Kull.1981
Corteza y hojas	Cyclitol, glucosa, fructuosa, arabinosa, xilosa, manosa galactosa, glucosamina.	Diamanto Glous y Kull.1981 Bar – Nun y Col. 1981
	Fitosterina, levulosa, ácido palmítico, ácido esteárico.	Mortes y Wilkomiesky. 1985 Diamanto Glous y Kull.1981
Hojas	Preisocalamanidiol.	Delvalle y Col. 1987
	Ácido linoléico, ácido bohémico, ácido lignocérico.	Diamanto Glous y Kull.1981
Fruto	Metil isomasticadienolálico.	Pozzo y Coll. 1976
	Ácido 3-epi-isomasticadienolálico.	Pozzo y Coll. 1978
	Ácido masticadienonámico, lactosa.	Joel y Coll. 1978
	Ácido lignocérico, $\alpha$ - amyrina, $\beta$ – citosterol, ácido cetótico.	Hashim y Coll.1978
	Myrceno, limonemo, $\alpha$ - cadeniol.	Bernhard y Coll. 1983
	A- felandreno, dideneno, $\beta$ - feland.	Anon Wroistad. 1963

**Anexos de figuras:**

**Figura 1:** Planta de *Schinus molle* L.



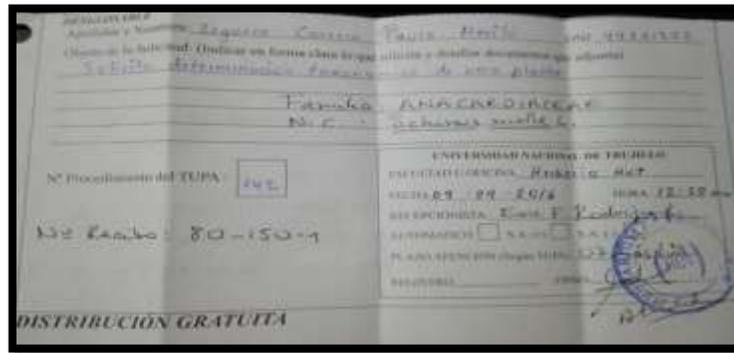
**Figura 2:** Mapa geográfico de recolección de la planta de *Schinus molle* L.



**Figura 3:** Recolección y traslado del *Schinus molle* L.



**Figura 4:** Identificación taxonómica de *Schinus molle* L. en herbarium Truxilense HUT de la universidad nacional de Trujillo, donde se encuentra registrado como *Schinus Molle* L.



**Figura 6:** Obtención del aceite esencial de *Schinus molle* por Hidrodestilación en el equipo Clevenger.



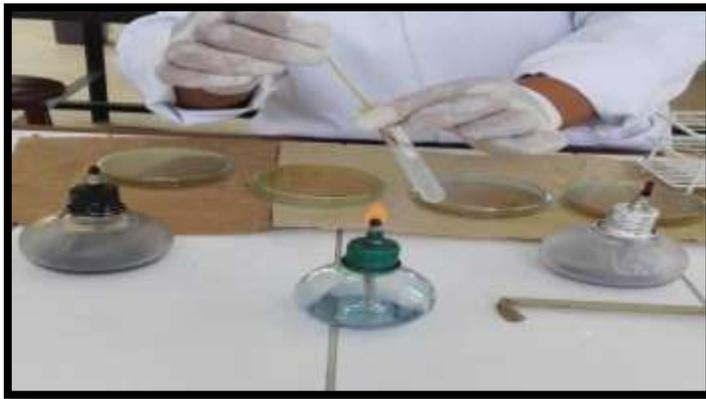
**Figura 7:** Preparación del agar saboraud dextrosa al 5%



**Figura 8:** Esterilización del agar saboraud a 120 °c x 15 minutos, antes de servir a las placas Petri.



**Figura 9:** Rejuvenecimiento de la cepa de *Candida albicans*.



**Figura 10:** Crecimiento de la cepa *Candida albicans* durante 24 horas de exposición



**Figura 11:** *Candida albicans* estandarizado según el patrón Macfarland.



**Figura 12:** Siembra de *Candida albicans*.



**Figura 13:** lectura de resultados según halos de inhibición durante las 24 y 48 horas de exposición.

