



**Universidad
Norbert Wiener**

**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**ACTIVIDAD ANTIMICÓTICA “IN VITRO” DEL ACEITE
ESENCIAL DEL FRUTO MADURO DE *Schinus molle* L.
(Molle) FRENTE A CEPA DE *Candida albicans* ATCC 10231**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

Presentado por:

Br. Zambrano Ospinal, Agar Leonor

Asesora:

Mg. Jaramillo Briceño, Marilú Ricardina

Lima – Perú

2019

DEDICATORIA

A Dios, por ser mi guía en cada paso que doy, la medicina en mi enfermedad y la fortaleza en mis debilidades.

A mi esposo Alfredo, por su paciencia, su apoyo, sus sacrificios y sus palabras de aliento en el transcurso de mi carrera, las cuales han sido mi motor y motivo para lograr este objetivo.

A mis hermanos Miguel y Enoc, por brindarme buenos consejos que me encaminaron y orientaron para tomar las mejores decisiones en mi carrera profesional.

A mis suegros Prudencio y Emilia, por haberme apoyado moralmente en la culminación de esta meta trazada.

Br. Zambrano Ospinal, Agar Leonor

AGRADECIMIENTO

Agradezco a todos mis maestros de la Universidad Privada Norbert Wiener por sus enseñanzas, conocimientos y sabios consejos que me brindaron durante mi formación académica profesional, asimismo, a la Universidad Nacional Mayor de San Marcos por abrirme las puertas de su laboratorio para realizar la parte experimental de este trabajo de investigación.

A mi asesora de tesis Mg. Jaramillo Briceño, Marilú Ricardina por su entrega, por su dedicación, por su comprensión y su apoyo incondicional brindado durante el desarrollo de la tesis ya que sin su guía no hubiese sido posible realizar esta investigación.

Al Ing. Pedro Romero y Otiniano por el apoyo brindado en la extracción del aceite esencial.

A todos mis familiares y amigos que en cierto modo se vieron involucrados en el desarrollo de este trabajo de tesis.

A los miembros del jurado por su valioso tiempo empleado en la revisión, corrección, sugerencias y recomendaciones brindadas para finalizar del presente trabajo.

Presidente: Dra. Alvarado Chávez, Britt.

Secretario: Mg. Villanueva Vílchez, Hugo.

Vocal 1: Q.F. Ramos Jaco, Antonio Guillermo.

Suplente: Q.F. Cárdenas Orihuela, Robert Armando.

Mi más sincero y profundo agradecimiento a todos ellos.

Br. Zambrano Ospinal, Agar Leonor

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN

ABSTRACT

| | Pág. |
|---|------|
| I. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 1.1. Realidad problemática | 1 |
| 1.2. Formulación del problema | 2 |
| 1.3. Justificación | 3 |
| 1.4. Objetivos | 3 |
| 1.4.1. Objetivo general | 3 |
| 1.4.2. Objetivos específicos | 3 |
| 1.5. Variables | 4 |
| 1.6. Hipótesis | 4 |
| II. MARCO TEÓRICO | 5 |
| 2.1. Antecedentes de la investigación | 5 |
| 2.1.1. Antecedentes internacionales | 5 |
| 2.1.2. Antecedentes nacionales | 6 |
| 2.2. Bases teóricas | 10 |
| 2.2.1. <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 10 |
| 2.2.2. Clasificación taxonómica | 11 |
| 2.2.3. Nombres vulgares | 11 |
| 2.2.4. Antecedente histórico | 11 |
| 2.2.5. Origen y distribución | 12 |
| 2.2.6. Hábitat | 12 |
| 2.2.7. Descripción botánica | 12 |
| 2.2.8. Floración y fructificación | 13 |
| 2.2.9. Recolección y rendimiento | 13 |
| 2.2.10. Procesamiento de frutos y semillas | 13 |
| 2.2.11. Aspecto de cultivo | 13 |
| 2.2.12. Descripción etnobotánica | 14 |
| 2.2.13. Composición del AE extraído de frutos secos y hojas de molle en el Perú | 15 |
| 2.3. Aceite esencial (AE) | 16 |
| 2.3.1. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial (AE) | 17 |
| 2.3.2. Propiedades terapéuticas del aceite esencial (AE) | 17 |

| | |
|---|----|
| 2.3.3. Composición química general del aceite esencial (AE) | 17 |
| 2.4. <i>Candida albicans</i> | 18 |
| 2.4.1. Clasificación taxonómica | 19 |
| 2.4.2. Pared celular de la levadura de <i>Candida albicans</i> | 19 |
| 2.4.3. Aspectos micológicos | 19 |
| 2.4.4. Candidiasis | 20 |
| 2.4.5. Candidiasis vulvovaginal (CVV) | 21 |
| 2.4.6. Candidiasis vulvovaginal recurrente o residivante (CVVR) | 22 |
| 2.4.7. Resistencia de levaduras de <i>Candida</i> al fluconazol (FCZ) | 22 |
| 2.5. Sensibilidad a los antifúngicos (antifungigrama) | 23 |
| 2.6. Halos de inhibición | 23 |
| 2.7. Valores de sensibilidad en el aromagrama según Duraffourd | 23 |
| III. MATERIALES Y MÉTODOS | 24 |
| 3.1. Tipo y diseño | 24 |
| 3.2. Población y muestra | 24 |
| 3.3. Criterios de inclusión y exclusión | 25 |
| 3.4. Metodología | 25 |
| 3.5. Instrumentos y procedimiento de recolección de datos | 35 |
| IV. RESULTADOS | 36 |
| V. DISCUSIÓN | 44 |
| VI. CONCLUSIONES | 47 |
| VII. RECOMENDACIONES | 48 |
| VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICA | 49 |
| IX. ANEXOS | 54 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|--|------|
| Tabla 1. Partes de la planta de molle utilizado en la medicina tradicional del Cuzco (Perú) | 15 |
| Tabla 2. Composición del AE de frutos secos y hojas del molle de Perú | 16 |
| Tabla 3. Característica organoléptica del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 36 |
| Tabla 4. Resultado de solubilidad del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 37 |
| Tabla 5. Compuestos químicos presentes en el AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) determinado por GC/MS | 38 |
| Tabla 6. Monoterpenos presentes en el AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) determinado por GC/MS | 39 |
| Tabla 7. Sesquiterpenos presentes en el AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) determinado por GC/MS | 39 |
| Tabla 8. Monoterpeno oxigenado (grupo funcional éster) presente en el AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) determinado por CG/SM | 39 |
| Tabla 9. Valores de los halos de inhibición dado por el AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 40 |
| Tabla 10. Valores promedios de los halos de inhibición | 41 |
| Tabla 11. Categorización de los halos de inhibición según el Aromatograma de sensibilidad de Duraffourd | 43 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | Pág. |
|--|------|
| Figura 1. Árbol de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 10 |
| Figura 2. Algunos compuestos químicos presentes en el AE | 18 |
| Figura 3. Levadura con pseudofilamentos del género <i>Candida</i> | 20 |
| Figura 4. Equipo destilador por arrastre de vapor, cortesía del Ing. Pedro Romero y Otiniano – UNMSM | 28 |
| Figura 5. Decantación del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 29 |
| Figura 6. Flujograma del proceso de recolección, extracción y análisis posteriores de la especie de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 30 |
| Figura 7. Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 31 |
| Figura 8. Compuestos químicos observados en el cromatograma del CG/SM | 37 |
| Figura 9. Halos de inhibición formados por Fluconazol 25 µg y Dimetilsulfóxido (MDSO) | 41 |
| Figura 10. Halos de inhibición formados por el AE de <i>Schinus molle</i> L. a 40, 60, 80 y 100% | 42 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | Pág. |
|--|------|
| Anexo 1. Matriz de consistencia | 54 |
| Anexo 2. Operacionalización de variables | 55 |
| Anexo 3. Certificado botánico | 56 |
| Anexo 4. Constancia de extracción del AE del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. | 57 |
| Anexo 5. Certificado de la composición química del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) por GC/MS | 58 |
| Anexo 6. Protocolo de análisis de la actividad antimicótica del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 61 |
| Anexo 6,1. Constancia de participación de los análisis fisicoquímico y microbiológico del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 62 |
| Anexo 7. Certificado de la cepa <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 63 |
| Anexo 8. Certificado del medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa (ASD) | 64 |
| Anexo 9. Partes del árbol de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 65 |
| Anexo 9,1. Tronco y corteza | 65 |
| Anexo 9,2. Hojas | 65 |
| Anexo 9,3. Inflorescencia | 65 |
| Anexo 9,4. Frutos verdes y maduros | 65 |
| Anexo 10. Procesos a los que fue sometido la muestra vegetal de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | 66 |
| Anexo 10,1. Recolección | 66 |
| Anexo 10,2. Selección | 66 |
| Anexo 10,3. Secado | 66 |
| Anexo 10,4. Rotulado | 66 |
| Anexo 11. Procesos para la prueba de actividad antimicótica del AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | 67 |
| Anexo 11,1. Pesado del medio de cultivo | 67 |
| Anexo 11,2. Aplicación de los discos | 67 |
| Anexo 11,3. Incubación de las placas | 67 |
| Anexo 11,4. Medición de los diámetros de los halos de inhibición | 67 |
| Anexo 12. Equipos utilizados para la prueba de actividad antimicótica | 68 |
| Anexo 12,1. Baño María | 68 |
| Anexo 12,2. Autoclave | 68 |
| Anexo 13,3. Incubadora | 68 |

GLOSARIO DE TÉRMINOS

| | |
|--------------------------------------|---|
| AE: | Aceite esencial. |
| AEs: | Aceites esenciales. |
| CVV: | Candidiasis vulvovaginal. |
| CVVR: | Candidiasis vulvovaginal recurrente. |
| FCZ: | Fluconazol. |
| VO: | Vía oral |
| TARAE: | Terapia antirretroviral altamente efectiva. |
| C₂H₆OS: | Dimetilsulfóxido (DMSO). |
| CHCl₃: | Cloroformo. |
| H₂O: | Agua. |
| CH₃OH: | Metanol. |
| C₂H₅OH: | Etanol. |
| NaCl: | Cloruro de sodio. |
| ASD: | Agar Sabouraud Dextrosa. |
| ATCC: | American Type Culture Collection (Colección de Cultura Tipo Americana). |
| GC/MS: | Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas. |
| GC-FID: | Cromatografía de gases con detector de ionización de llama. |
| msnm: | Metros sobre el nivel del mar. |
| v/p: | Volumen/peso. |
| mm: | Milímetro. |
| m: | Metro |
| cm²: | Centímetro cuadrado. |
| cm³: | Centímetro cúbico. |
| °C: | Grados Celsius. |
| T°: | Temperatura. |
| µg: | Microgramo. |
| µL: | Microlitro. |
| Lt: | Litro. |
| mL: | Mililitro. |
| mg: | Miligramos. |
| t_R: | Tiempo de retención. |

RESUMEN

Candida albicans es un hongo polimórfico comensal de la microbiota del ser humano. En pacientes inmunocomprometidos desarrolla infecciones micóticas profundas en ocasiones mortales. *Schinus molle* L. se utiliza de forma tradicional como repelente, cicatrizante, antirreumática bactericida, fungicida y virucida. Para validar dichos usos y conferirle carácter científico se desarrolló el presente estudio con el **objetivo** de evaluar la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231. La **metodología** utilizada fue experimental, explicativa, cuantitativa y aplicada. El fruto se recolectó en la provincia de Huamanga (Ayacucho). Se extrajo el aceite esencial (AE) por destilación con arrastre de vapor. Se realizó la caracterización fisicoquímica, el análisis cualitativo por Cromatografía de gases y la evaluación de actividad antimicótica por el método de Kirby-Bauer (difusión en disco). En 18 placas con Agar Sabouraud Dextrosa, se sembró la cepa con una turbidez de 0,5 de McFarland. Se evaluó el AE en concentraciones de 40, 60, 80 y 100%, con el control positivo Fluconazol 25 µg y el negativo dimetilsulfóxido, se midieron los halos de inhibición con vernier digital a las 24, 48 y 72 horas. En los **Resultados** se observó el AE de color amarillo claro, olor herbáceo mentolado y penetrante, sabor astringente y ligeramente amargo, el rendimiento fue 5,2%, la densidad 0,833 g/mL y el pH 5. Se identificó cinco componentes mayoritarios α -Felandreno, β -Mirceno, D-Limoneno, β -Felandreno, O-Cimeno. El EA de *Schinus molle* L. a 40 y 60% mostró halos de inhibición de 6 mm, 80% de 9,7 mm y 100% de 12,3 mm. Se **concluye** que el AE a 40 y 60% no presentó actividad, a 80 y 100% presentó actividad antimicótica frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Palabras clave: Aceite esencial, *Schinus molle* L, actividad antimicótica, *Candida albicans* ATCC 10231.

ABSTRACT

Candida albicans is a commensal polymorphic fungus of the microbiota of the human being. In immunocompromised patients, it develops deep mycotic infections that are sometimes fatal. *Schinus molle* L. is used traditional as repellent, healing, antirreumatic bactericide, fungicide and virucide. To validate said uses and confer scientific character the present study was developed with the **objective** of evaluate the "in vitro" antimycotic activity of the essential oil (EO) of the mature fruit of *Schinus molle* L. (Molle) against strain of *Candida albicans* ATCC 10231. The methodology used was experimental, explicative, quantitative and applicative. The fruit was collected in the province of Huamanga (Ayacucho). The EO was extracted by steam distillation. The physicochemical characterization was carried out, the qualitative analysis by gas chromatography and the evaluation of antimycotic activity with the Kirby-Bauer **method** (disc diffusion). In 18 plates with Sabouraud Dextrose Agar, the strain was seeded with a turbidity of 0,5 of McFarland. The EO was evaluated in concentrations of 40, 60, 80 and 100%, with the positive control Fuconazole 25 μ g and the negative Dimethylsulfoxide, Inhibition halos were measured with digital vernier at 24, 48 and 72 hours. In the **results** the EO was observed o light yellow color, mentolate and penetrating herbaceous smell, astringent and slightly bitter taste, yield was 5,2%, density 0,833g / mL and pH 5. Five major components were identified α -Felandrene, β -Mircene, D-Limonene, β -Felandrene, O-Cimene. The EO of *Schinus molle* L. to 40 and 60% showed halos of inhibition of 6mm, 80% of 9,7mm and 100% of 12,3mm. It is concluded that the AE to 40 and 60% did not present activity, to 80 and 100% presented antimycotic activity against strain of *Candida albicans* ATCC 10231.

Key words: Essential oil, *Schinus molle* L, antimycotic activity, *Candida albicans* ATCC 10231.

I. INTRODUCCIÓN

1.1. REALIDAD PROBLEMÁTICA

En las últimas décadas las infecciones micóticas ya sean de origen nosocomial asociadas a cuidados sanitarios o a las infecciones comunitarias, constituyen un importante problema de salud pública. Actualmente se presentan como un conjunto de afecciones generando una morbimortalidad de gran impacto en la medicina contemporánea, generalmente son producidas por hongos levaduriformes del género *Candida*¹.

Candida albicans es un hongo polimórfico debido a que puede presentar morfología levaduriforme o bien crecer como hongo filamentoso desarrollando hifas verdaderas. Se considera un hongo comensal que existe como parte de la microbiota en el área mucocutánea, gastrointestinal y genitourinaria del ser humano sano y coloniza las membranas mucosas en un 30 a 60% de las personas, siendo el hongo patógeno principal del ser humano². Sin embargo, en individuos inmunocomprometidos es un patógeno oportunista capaz de causar infecciones superficiales y/o sistémicas que muchas veces pueden ser mortales³.

En Estados Unidos la candidiasis invasora representa el 75% de las infecciones por hongos en pacientes hospitalizados, con una mortalidad que alcanza cifras hasta del 78%⁴, mientras que, en el Perú, en los casos de candidemia, la especie aislada más frecuentemente es *Candida albicans* en un 40 a 60%⁵, reportándose que esta enfermedad tiene una mortalidad cercana al 50%⁶.

La candidiasis vulvovaginal (CVV), es una inflamación vaginal sintomática (vaginitis) que, con gran frecuencia, afecta a la vulva. Es causada fundamentalmente por *Candida albicans* en un 85 a 90%, afectando hasta el 75% de las mujeres en edad reproductiva que sufren al menos un episodio micótico durante su vida. Su tratamiento origina costes elevados y la frecuente automedicación puede dificultar el tratamiento de otras condiciones clínicas de distintas etiologías⁷. Suele causar enrojecimiento y edema en los labios menores de la vagina y/o de la vulva, inflamación, prurito, quemazón, leucorrea, polaquiuria, dispareunia y disuria⁸.

En México (2016) se realizaron estudios sobre candidiasis vulvovaginal en 412 pacientes de las cuales el 25% fueron reportados positivos⁹, mientras que, en la ciudad de Chiclayo (Noreste del Perú) se analizaron 90 pacientes entre gestantes y mujeres en edad fértil de las cuales el 22,2% dieron positivo para esta enfermedad¹⁰.

La candidiasis vulvovaginal es la segunda causa más común de infecciones vaginales, siendo precedida por la vaginosis bacteriana y es la razón más usual de consultas ginecológicas. Actualmente esta antigua enfermedad continúa presentando una elevada incidencia, a pesar de los avances terapéuticos no existen aún tratamientos efectivos¹¹.

Sin embargo, la flora en el Perú es muy diversa debido a la ubicación geográfica que facilita el desarrollo de la biodiversidad vegetal en nuestro territorio. Muchas de las especies vegetales tienen aplicaciones medicinales que luego de comprobarse científicamente pueden ser aprovechadas por la Industria Farmacéutica para la elaboración de fitomedicamentos, de esta manera podría generarse una alternativa para el tratamiento de la candidiasis vulvovaginal (CVV). Tal es el caso de *Schinus molle* L. (Molle), que es un árbol originario de la región andina de Sudamérica, se encuentra principalmente en el Perú con una amplia distribución, con mayor abundancia entre los valles interandinos, especialmente en las regiones áridas y semiáridas de la Serranía, la Costa y parte de la Amazonía, cuyo aceite esencial de las hojas y semillas poseen actividades insecticidas, antibacterianas y antifúngicas. Se han identificado los principales componentes como mirceno, felandreno, limoneno y cadinol^{12,13}, los cuales podrían ser los metabolitos responsables de las acciones antibacteriana y antimicótica.

Se ha demostrado que los aceites esenciales extraídos de las hojas y los frutos pueden inhibir el crecimiento de *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium culmorum*, *Alternaria alternata*¹² y *Candida albicans*²⁴, esta última especie es la que ocasiona en el ser humano el 15% de infecciones micóticas que evolucionan a candidiasis vulvovaginal recurrente (CVVR)¹⁴.

La presente investigación tuvo como objetivo evaluar la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, los resultados contribuirán con el conocimiento científicamente validado sobre esta propiedad medicinal y servirá como referencia para el desarrollo de otros proyectos de investigación en el campo farmacológico y el uso adecuado de nuestros recursos vegetales.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Presentará actividad antimicótica “in vitro” el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231?

1.3. JUSTIFICACIÓN

La presente investigación se justifica en los siguientes aspectos:

- a) **Salud:** Permitirá que los profesionales de la salud empleen nuevas alternativas para el tratamiento de la candidiasis vulvovaginal (CVV).
- b) **Social:** Permitirá que la sociedad conozca la importancia del cultivo de esta especie para mejorar el rendimiento y la calidad de su aceite esencial.
- c) **Económico:** Permitirá la comercialización del aceite esencial extraído del fruto maduro de *Schinus molle* (Molle) para usos medicinales.
- d) **Académico:** Servirá como antecedente para futuras investigaciones.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Identificar los principales componentes del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle).
2. Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 40% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
3. Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 60% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
4. Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 80% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
5. Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 100% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
6. Determinar a qué concentración el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) presenta mayor actividad antimicótica “in vitro”.

1.5. VARIABLES

1.5.1. VARIABLE INDEPENDIENTE

Aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle).

1.5.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Actividad antimicótica frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

1.6. HIPÓTESIS

1.6.1. HIPÓTESIS GENERAL

El aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

1.6.2. HIPÓTESIS ESPECÍFICAS:

1. Los componentes del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) presentan actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
2. El aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 40% no presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
3. El aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 60% no presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
4. El aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 80% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
5. El aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 100% presenta mayor actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.
6. El aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) presenta mayor actividad antimicótica “in vitro” a mayor concentración.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

2.1.1. Antecedentes internacionales:

Arias J, et al. En el 2017, investigaron “Actividad insecticida, repelente y antialimentaria del polvo y AE de frutos de *Schinus molle* L. para el control de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky)”, cuyos **objetivos** fueron evaluar la actividad insecticida e insectistática del polvo y AE de frutos de *Shinus molle* L. sobre *Sitophilus zeamais*. Para la actividad insecticida utilizaron la **metodología** de Tavares y Vendramin (2005) con modificaciones, colocaron 100 g de maíz mezclado con el polvo o AE por cuadruplicado, de acuerdo a los tratamientos: 0; 0,5; 1,0; 2,0; 4,0 y 8,0% y en el caso del AE lo diluyeron en 1 mL de acetona y lo mezclaron con el maíz. Luego infestaron las muestras con 10 parejas de insectos de una semana de edad diferenciados por sexo y almacenaron en una cámara bioclimática en condiciones adecuadas. A los 15 días cuantificaron los insectos adultos vivos y muertos de cada tratamiento y calcularon el porcentaje de mortalidad. En sus **resultados** mostraron mayor mortalidad del gorgojo con el AE al 8,0% con 96,3% de insectos muertos, una CL₅₀ de 3,82 mL, asimismo el polvo mostró un 63,8% de mortalidad y una CL₅₀ de 7,95 g. **Concluyen** que el polvo y AE de *Schinus molle* presentaron actividad insecticida por contacto directo sobre *Sitophylus zeamais*¹⁵.

Rivadeneira D. En el 2015, realizó la tesis para optar el título profesional de odontólogo “Potencial biocida del EA de *Schinus molle* L. (molle) frente al Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre *Streptococcus mutans*, principal agente cariogénico, estudio “in vitro”. Cuyo **objetivo** fue evaluar el potencial biocida “in vitro” que posee el AE de *Schinus molle* L. frente al Gluconato de clorhexidina al 0,12% sobre *Streptococcus mutans*. Extrajo el AE de 140 g de hojas mediante hidrodestilación y obtuvo 2 mL de AE. Evaluó el efecto antibacteriano del AE al 50 y 100% utilizando el **método** de Kirby-Bauer (difusión en disco). Realizó la siembra por hisopado del microorganismo con una turbidez de 0,5 de Mcfarland, empleó el control positivo clorhexidina al 0.12% y negativo agua destilada. Incubó las placas a 37°C por 24 y 72 horas, midió los halos de inhibición con calibrador milimétrico. En su **resultado** reportó un rendimiento de 1,48% y los halos de inhibición del AE al 50% en 24 horas fueron de 13,15 mm y a las 72 horas de 13,25 mm, mientras que al 100% en 24 horas fueron de 12,50 mm y a las 72 horas de 12,60 mm. **Concluye** que el AE de *Shinus molle* L. tiene actividad biocida sobre cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en ambas concentraciones¹⁶.

Guala M, et al. En el 2014, estudiaron el “Efecto acaricida del AE de Aguaribay (*Schinus molle* L.) y sus fracciones en colmenares de Abejas (*Apis mellifera*) en relación con la composición química”, cuyo **objetivo** fue encontrar los componentes más activos del AE de Aguaribay (*Schinus molle* L.) capaces de controlar la proliferación de *Varroa destructor* que parasita a las abejas. Extrajeron el AE de la mezcla formada por frutos molidos 25%, hojas 65% y tallos pequeños 10%. Identificaron los compuestos del AE por comparación de los índices de retención obtenidos en dos columnas. La **metodología** que emplearon fue directa, antes de aplicar los productos a ensayar determinaron la mortalidad natural de los ácaros, para lo cual contabilizaron las *varroas* muertas en el transcurso de una semana. Luego seleccionaron fracciones ricas en pinenos (F2) y terpinen-4-ol (F5) y el AE crudo (AEC) con volúmenes adecuados, las dos primeras disolvieron en aceite comestible, vertieron en distintas cubetas de metal, cubrieron con una red metálica y llevaron al interior de las colmenas, asimismo, en el grupo control colocaron un producto comercial de tiras impregnadas de Amitraz y cada 15 días contaron el número de *varroas* muertas. En sus **resultados** reportaron que los valores de eficacia fueron 30 ± 6 para la F2, 38 ± 6 para la F5 y 9,2 para (AEC). **Concluyen** que el pineno y terpinen-4-ol pueden controlar la proliferación de *Varroa destructor* que parasita a las abejas¹⁷.

2.1.2. Antecedentes nacionales:

Ramírez R, Soto R. En el 2018, desarrollaron la investigación, “Efecto antibacteriano del AE de las hojas de molle (*Schinus molle* L.) frente a cepas de *Escherichia coli* in vitro”, cuyo **objetivo** fue evaluar la actividad antibacteriana in vitro del AE de las hojas de molle (*Schinus molle* L.) sobre cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922. Extrajeron el AE de 2 kg de hojas por destilación por arrastre de vapor y obtuvieron 3,98 mL de AE. Evaluaron la actividad antibacteriana del AE al 25, 50 y 100% con el **método** de Kirby-Bauer (difusión en disco). En Agar Müeller Hinton sembraron 100 μ L de inóculo bacteriano con una turbidez de 0,5 de McFarland. Colocaron sobre el agar papel filtro empapados del AE, utilizaron grupos controles de Ciprofloxacino 500 mg y agua destilada. Incubaron las placas a 37°C por 24, 48 y 72 horas y midieron los halos de inhibición con un vernier. En sus **resultados** reportaron un rendimiento de 0,22%, la densidad 0,9165 g/mL, y los halos de inhibición del AE al 25% en 24 horas fueron de 7 mm; a las 48 horas de 8 mm y a las 72 horas de 10 mm; mientras que al 50% en las 24 horas fueron de 10 mm; a las 48 horas de 13 mm y a las 72 horas de 15 mm y al 100% en las 24 horas fueron de 13 mm; a las 48 horas de 23 mm y a las 72 horas de 29,5 mm. **Concluyen** que el AE al 50 y 100% tiene actividad antibacteriana sobre cepa de *Escherichia coli* ATCC 25922¹⁸.

Rojas S. En el 2017, realizó la investigación “Screening fitoquímico y efecto antimicrobiano del *Schinus molle* (molle)”, cuyos **objetivos** fueron identificar los metabolitos presentes en el AE del *Schinus molle* “molle” y determinar el efecto antimicrobiano in vitro frente a cepas de *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Extrajo AE de 5,028 kg del fruto por destilación por arrastre de vapor y obtuvo 106 mL de AE. Para la determinación del efecto antimicrobiano utilizó el **método** de Kirby-Bauer (difusión por excavación). En Agar Müeller Hinton sembró una suspensión bacteriana por hisopado, luego excavó 4 pozos de 8 mm e inoculó en cada placa volúmenes de 0,10; 0,15; 0,20 y 0,25 mL de AE, por cuadruplicado y utilizó como control positivos amoxicilina/Ácido clavulánico 20/10 µL para *Staphylococcus aureus* y Amikacina 30 µl para *Escherichia coli*. Incubó las placas a 37°C por 24 horas, y midió el área de los halos de inhibición con vernier. En su **resultado** reportó presencia de flavonoides y taninos; asimismo, los halos de inhibición del AE frente a cepa de *Staphylococcus aureus* al volumen de 0,10 mL fue de 16,68 mm; 0,15 mL de 17,56 mm; 0,20 mL de 18,81 mm y 0,25 mL de 20,50 mm y para *Escherichia coli* al volumen de 0,10 mL 14,75 mm; 0,15 mL de 16,56 mm; 0,20 mL de 16,62 mm y 0,25 mL de 18.62 mm. **Concluye** que en el AE *Schinus molle* “molle” existe presencia de flavonoides y taninos; asimismo, el AE posee efecto antimicrobiano frente a cepas *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Vásquez J, Díaz D. En el 2014, estudiaron la investigación “Efecto antimicótico in vitro del aceite de molle (*Schinus molle* Linneo) sobre *Trichophyton mentagrophytes*” cuyo **objetivo** fue determinar si el aceite de molle (*Schinus molle*) tiene efecto antimicótico “in vitro” sobre *Trichophyton mentagrophytes* ATCC 9533. Extrajeron el AE del fruto por destilación por arrastre de vapor. Evaluaron el efecto antimicótico utilizando el **método** Kirby-Bauer (difusión en disco), En 24 placas Petri con Agar Mycosel sembraron 100 µl del inóculo estandarizado, dividieron las placas Petri en cuatro campos y colocaron discos de acetato de celulosa de 4,5 mm y con un espesor de 220 µm, a 12 placas Petri colocaron discos de sensibilidad embebidos de aceite de molle en concentraciones de 2, 4 y 6%, mientras que en las 12 placas restantes colocaron concentraciones de 8, 10 y 12%; además en cada placa colocaron un disco embebidos de mineral estéril como grupo control. A las 72 horas midieron los halos de inhibición con un vernier. En sus **resultados** mostraron halos de inhibición del AE de molle; al 2% fue de 0,61 mm; al 4% de 0,8 mm; al 6% de 0,83 mm; al 8% de 0,88 mm; al 10% de 0,90 mm y al 12% de 1,23 mm. **Concluyen** que el AE de *Schinus molle* tiene efecto antimicótico sobre *Trichophyton mentagrophytes*²⁰.

Moncada M. En el 2013, desarrolló la tesis para optar el título profesional de Ingeniero Biotecnólogo “Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del AE de *Schinus molle* L. (molle) de Arequipa y Moquegua contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*”, cuyos **objetivos** fueron determinar la composición y actividad antimicrobiana del AE de *Schinus molle* L. (molle) de especies de Arequipa y Moquegua contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Extrajo AEs de 750 g de frutos por destilador por arrastre de vapor. Evaluó la composición química de ambos AE y la prueba de actividad antimicrobiana con el **método** de kirby-Bauer (difusión por excavación). Sembró mediante hisopado cada microorganismo con una turbidez de 0,5 de McFarland en medios de cultivos específicos. Cavó pozos de 5 mm en cada placa y añadió 100 µl de AE puro, incubó a 37°C por 24 horas. Midió los halos de inhibición con un vernier. En su **resultado** reportó presencia de α -pineno, β -pineno, β -mirceno, α -felandreno y silvestreno en ambos AEs; asimismo, refiere halos de inhibición del AE de Arequipa al 100% sobre *Klebsiella pneumoniae* fue de 12 mm, *Pseudomona aeruginosa* de 5 mm y *Staphylococcus aureus* de 17 mm, y para el AE de Moquegua al 100% sobre *Klebsiella pneumoniae* fue de 7 mm, *Pseudomona aeruginosa* de 5 mm y *Staphylococcus aureus* de 7 mm. **Concluye** que en ambos AEs encontraron α -pineno, β -pineno, β -mirceno, α -felandreno y silvestreno; asimismo, el AE de Arequipa presentó actividad antibacteriana en *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*; sin embargo, el AE de Moquegua no presentó actividad²¹.

Cedamanos I. En el 2013, desarrolló la tesis para optar el grado de Doctor en Estomatología “Efecto inhibitorio in vitro del AE de *Schinus molle* L. “molle” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175”, cuyo **objetivo** fue conocer el efecto inhibitorio in vitro del AE de *Schinus molle* L. “molle” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Extrajo AE de 6,350 kg de hojas por destilación por arrastre de vapor y obtuvo 475 mL de AE. Para el efecto inhibitorio del AE a 25, 50, 75 y 100% utilizó el **método** Kirby-Bauer (difusión en disco). En Agar Müeller Hinton más el 5% de sangre de conejo inoculó la suspensión bacteriana y colocó discos embebidos del AE, para el control positivo utilizó discos embebidos con bencilpenicilina procaínica de un millón y para el negativo discos embebidos con alcohol etílico. Incubó las a 37°C por 24 horas en microanaerobiosis. Midió los halos de inhibición con un pie de rey manual. En su **resultado** reportó que los halos de inhibición del AE en diferentes concentraciones no fueron mayores a 8 mm. **Concluye** que el AE de *Schinus molle* L. no presentó efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175²².

Llanos S. En el 2012, desarrolló la tesis para optar el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias “Extracción y caracterización del AE de Molle (*Schinus molle* L.)”, cuyos **objetivos** fueron extraer y caracterizar el AE del fruto maduro del Molle y comprobar la actividad antimicótica del AE frente a *Penicillium italicum*. Extrajo AEs de los frutos de dos localidades de la región Tacna (Centro Poblado Menor de los Palos y el distrito de Tarata) por destilación por arrastre de vapor y los separó por lotes (lote N° 01 (Los Palos) y lote N° 02 (Tarata)). Analizó la composición química, el análisis fisicoquímico y efecto antimicótico de ambos AEs utilizando el **método** Kirby-Bauer (difusión en disco). Sembró el hongo en 4 placas. Cavó pozo de 1,45 cm de diámetro, en las placas “A (aceite Los Palos)” y “B (aceite de Tarata)”, inoculó 0,1 mL de AE de molle y en las placas “T” (testigo) inoculó 0,1 mL de alcohol puro de 96°. Incubó por 8 días a 25°C. Midió los halos de inhibición. En su **resultado** reportó para lote N° 01 un rendimiento de 6,575%, índice de refracción 1,478, densidad 0,846 g/cm³, densidad relativa 0,847, punto de congelación -35°C, índice de acidez 6,023 mg KOH/g e índice de éster 17,008 y para el AE lote N° 02 un rendimiento de 7,705% , índice de refracción 1,477, densidad 0,831 g/cm³, densidad relativa 0,832, punto de congelación -35°C, índice de acidez 12,718 mg KOH/g e índice de éster 23,148. En ambos AEs identificó limoneno, α -pineno, β -pineno, β -mirceno y α -felandreno. Los halo de inhibición del AE para la placa “A” fue de 3,496 cm², para la placa “B” de 5,161 cm² frente a *Penicillium italicum* y la placa “T” no presentó halo de inhibición en las dos muestras. **Concluye** que el AE del molle de ambos lotes presentó actividad antimicótico frente a *Penicillium italicum*²³.

Saravia N, Guillinta G. en el 2012, realizaron la investigación “Actividad antifúngica del extracto etanólico de *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*”, cuyo **objetivo** fue determinar la actividad antifúngica del extracto etanólico de *Schinus molle* y el fluconazol sobre *Candida albicans*. Prepararon el extracto etanólico de las hojas. Evaluaron la actividad antimicótica con el **método** de Kirby-Bauer (difusión en disco). Utilizaron 60 placas de Agar Sabouraud Dextrosa 30 para el extracto de *Schinus molle* a concentración de 25 μ g/mL y 30 para el fluconazol de 25 μ g/mL, colocaron discos embebido del extracto y discos de fluconazol. Las placas evaluaron a las 24 horas y midieron los halos de inhibición con un pie de rey. En sus **resultados** reportan que el extracto de *Schinus molle* a 25 μ g/ml, mostró halos de inhibición ≥ 20 mm, y el Fluconazol al 25 μ g/ml de ≥ 31 mm. **Concluyen** que el extracto etanólico de *Schinus molle* presentó actividad antifúngica frente a cepa de *Candida albicans*²⁴.

2.2. Bases teóricas

2.2.1. *Schinus molle* L. (Molle)

Molle es un árbol hermoso de formas caprichosas, copa frondosa, follaje denso, coloridos frutos y diversos usos que hacen de él una especie muy productiva. Se le emplean en la reforestación de cuencas para proteger riberas de ríos, controlar la erosión de laderas y arborizar las ciudades, tanto por su belleza como por su resistencia a la escasez del agua²⁵.

El molle pertenece a la familia *Anacardiaceae*, presentan grupos de plantas con 548 especies, de las cuales 29 pertenecen al género *Schinus* las que presentan una abundante floración y fructificación, al ser una especie dioica presenta una inflorescencia masculina y femenina, de este último derivan los frutos²⁶, como se observa en la figura 1.

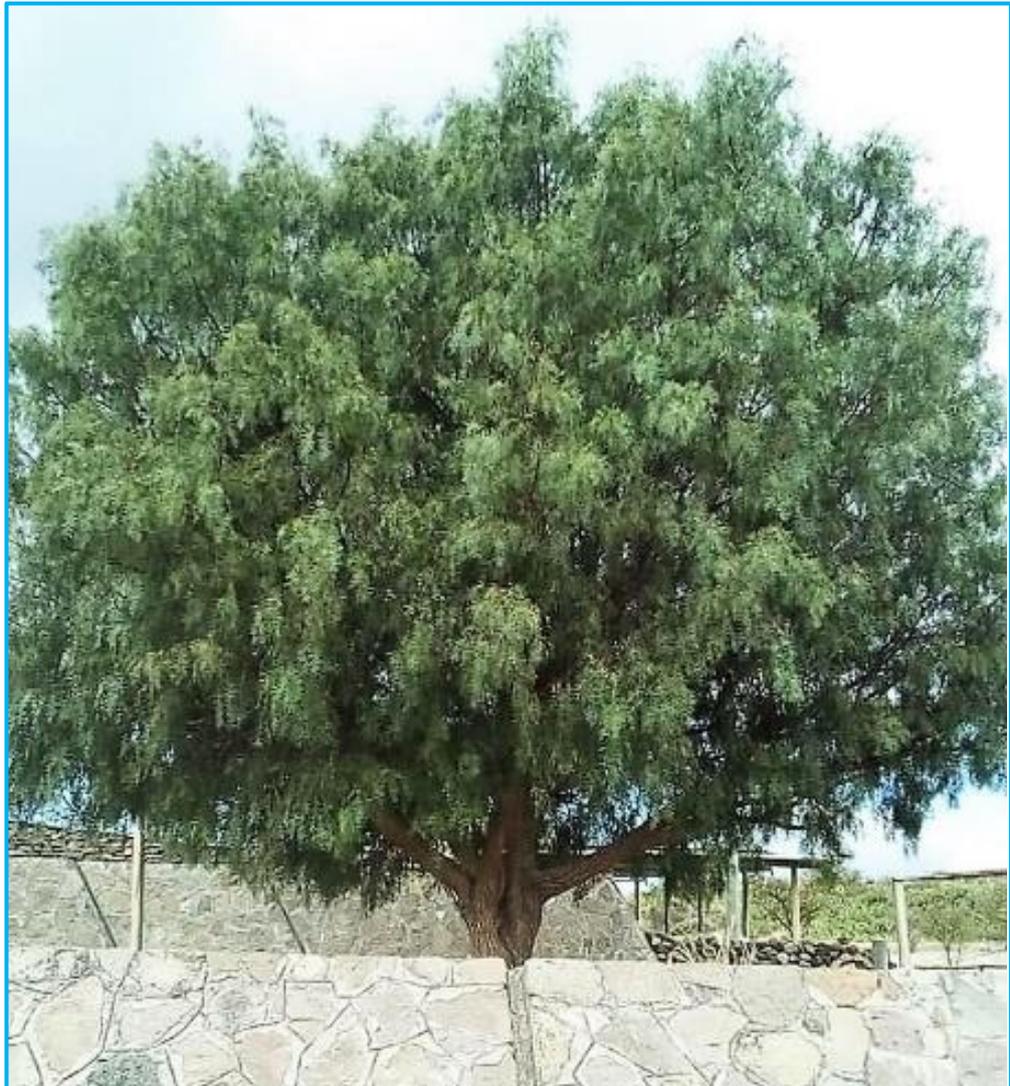


Figura 1. Árbol de *Schinus molle* L. (Molle)

2.2.2. Clasificación taxonómica

La clasificación taxonómica de la especie *Schinus molle* L. (Molle) fue certificada por el Biólogo José Ricardo Campos De la Cruz (C.B.P. N°3796), según el sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist 1981, ocupando las siguientes categorías observada en el anexo 3.

Reino: *Plantae*

División: *Magnoliophyta*

Clase: *Magnoliopsida*

Subclase: *Rosidae*

Orden: *Sapindales*

Familia: *Anacardiaceae*

Género: *Schinus*

Especie: *Schinus molle* L.

Nombre vulgar: “Molle”.

2.2.3. Nombres vulgares

El árbol de *Schinus molle* L. (Molle) es conocido con diferentes nombres vulgares en distintos países de Sudamérica como: molle, aguaribay, huaribay, cuyash, falsa pimienta (Perú); pirul, pirú, árbol del Perú (México); aymara (Bolivia); muelle, falso pimienta, pimienta (Colombia); mulli (Ecuador); pimenteiro, aroeira, amescla, aroeira periquita, bálsamo, fruto de sabia (Brasil); aguaribay, terebinto, árbol de la pimienta, gualaguay (Argentina) y pimienta (Chile)²⁷.

2.2.4. Antecedente histórico

El Molle deriva de la voz quechua “mulli”, era el árbol sagrado de los Incas quienes lo hacían plantar y regar en el contorno de sus palacios, templos, edificios públicos y alrededor de todo el Cuzco. También gran parte de los caminos reales que construyeron eran sombreados por estos árboles y la resina que se obtenía de su tronco era utilizada para embalsamar cadáveres, así como para curar heridas; por esto también fue llamado el árbol de la vida. En Perú y Bolivia se usaba en aquellos tiempos los frutos para preparar “chicha”. Asimismo, este árbol fue citado por muchos naturalistas y viajeros de la época de la conquista de América^{13,27}.

2.2.5. Origen y distribución

El árbol del Molle, es originario de la región andina de Sudamérica, principalmente Perú, aunque se extiende de Ecuador a Chile y Bolivia. También es ampliamente distribuido en México, en Centroamérica, en el Sur de California y Oeste de Texas, en Estados Unidos¹².

2.2.6. Hábitat.

El Molle es oriundo de los valles interandinos, especialmente de las regiones áridas y semiáridas de las serranías y el bosque montañoso bajo. También crece tanto de manera silvestre como cultivada en zonas secas de la costa, la serranía y parte de la Amazonía, desde el nivel del mar hasta los 3,500 msnm. Desarrolla con mayor eficiencia en lugares con suelos ligeros a rocosos y bajo condiciones climáticas tropicales y templadas. Por su enraizamiento profundo es resistente a la sequía. La raíz profunda que desarrolla el germen antes de aparecer por encima del suelo es causa de la dificultad de trasplantar esta especie¹³.

2.2.7. Descripción botánica

El Molle es un árbol que tiene rápido crecimiento, cuando es joven alcanza hasta 3 m de altura en un par de años. Cuando alcanzar su madurez mide de 10 a 15 m de altura y vive aproximadamente 100 años²⁸. Su tronco puede tener un diámetro de 1,5 m en la base y es muy ramificado en la parte superior, ver anexo 9,1. Su corteza es de color café claro, ligeramente grisáceo y su textura es áspera y agrietada. En su juventud, el Molle a menudo tiene tendencias de crecer como un arbusto, entonces para lograr un porte de árbol, es necesario la poda de formación, ver anexo 9,1. Su follaje es perenne, denso y sus ramas son colgantes. Sus hojas son compuestas, lanceoladas, de márgenes aserradas, muy aromáticas y miden entre 1,5 a 4 cm de largo, ver anexo 9,2. Sus inflorescencias son pequeñas y numerosas de color amarillo, miden aproximadamente 6 mm de ancho, siendo hermafroditas o unisexuales y están dispuestas en panículas axilares de las hojas terminales que miden entre 10 a 15 cm. de largo, ver anexo 9,3. Sus frutos son drupas que están agrupadas en racimos colgantes, cada fruto mide de 5 a 9 mm de diámetro, son de color rosado o rojizo muy llamativo, posee un exocarpio delgado, mesocarpio de sabor dulce y endocarpio duro, contienen una a dos semillas por fruto dura y picante, ver anexo 9,4. Sus semillas son de color negro, tienen la textura rugosa, de forma redondeada y su tamaño varía entre los 3 y 5 mm de diámetro. Su raíz es larga de forma pivotante, resistente a las sequías y le permite acceder al agua del subsuelo^{12,13, 27, 29}.

2.2.8. Floración y fructificación.

Floración: La especie florece en agosto a diciembre y de septiembre a noviembre en varias localidades de Brasil, en Bolivia de octubre a noviembre y en Perú de noviembre a abril.

Fructificación: Los frutos se producen de diciembre a febrero y de noviembre a abril en varias localidades de Brasil. En Bolivia fructifica de abril a mayo. La dispersión de las semillas es zoocórica, principalmente por las aves.

Semilla: Se encuentra rodeada por el endocarpio del fruto. La semilla presenta una forma oblonga, comprimida, de 2 a 2,5 mm de largo. La testa es de color castaño claro, lisa, lustrosa, membranosa y muy delgada. El embrión es recto o ligeramente curvo, comprimido o globuloso de color amarillo crema y ocupa toda la cavidad de la semilla. Tiene dos cotiledones grandes, carnosos y oblongos. La radícula es corta, inferior y carece de endospermo²⁷.

2.2.9. Recolección y rendimiento.

Los frutos son recolectados directamente del árbol cuando tienen un color rosado a rojizo. En Perú se recolectan de enero a abril²⁷.

2.2.10. Procesamiento de frutos y semillas.

Después de recolectados los frutos son transportados en sacos al sitio de procesamiento. Los frutos son lavados y macerados en agua para eliminar la cubierta dulce que recubre a la semilla. Luego se secan a media sombra en un sitio ventilado para su almacenamiento posterior. En Perú los frutos recién colectados se secan al sol por cinco a siete días; luego se estrujan para liberar la semilla de la cáscara y se airean para limpiar impurezas²⁷.

2.2.11. Aspectos de cultivo

Se aconseja practicar poda de formación en árboles jóvenes y poda sanitaria en adultos. Conviene cortar la corteza en primavera para promover su crecimiento. El riego es importante en las primeras etapas. No requiere fertilización. La siembra debe hacerse en sustratos permeables para que las sustancias inhibitorias de la germinación se lixivien. Las semillas remojadas por varios días se siembran en almácigos y luego se trasplantan a envases. Se planta a una distancia mínima de 8 m entre cada árbol, en lugares con suficiente espacio, lejos de construcciones e instalaciones subterráneas. La producción de vivero es aproximadamente de 17,000 plantas por kg de semilla. Se siembran en hileras a 2 cm de distancia, empleando 120 g de semilla por m² y se trasplanta con cepellón³⁰.

2.2.12. Descripción etnobotánica

El uso tradicional de *Schinus molle* L. (Molle) en la medicina se remonta a tiempos prehistóricos, Sin embargo, en la actualidad sigue siendo provechoso para las sociedades poco industrializadas con dificultades de acceso a medicamentos. Cada parte de la planta se utiliza con diverso fines.

En el alimento: Las semillas molidas del Molle se usan como pimienta blanca y las enteras como pimienta rosada. Con la cubierta dulce de las semillas se prepara chicha y la leche de molle, que es una chicha no fermentada que adelgaza sin debilitar. La miel de Molle se elabora hirviendo el líquido de los frutos maduros hasta que toma consistencia de jarabe¹³.

En la medicina casera: El Molle es una planta ampliamente utilizada en la medicina tradicional, sirve para combatir malestares del riñón, vejiga e hígado, así como diversos dolores corporales y algunas afecciones respiratorias. La infusión de las hojas se utiliza contra el reumatismo y como depurativo de la sangre, asimismo para lavados en caso de enfermedades venéreas (gonorrea), conjuntivitis y cataratas, alivia dolores menstruales y urinarios (cistitis, uretritis), disminuye la pirexia, La infusión de la corteza se le han atribuido propiedades antiinflamatorias, antiespasmódicas, cicatrizantes y los baños con el agua de las hojas en decocción, sirven como analgésico, cicatrizante y antiinflamatorio de uso externo, las hojas secas expuestas al sol se usan como cataplasma para aliviar el reumatismo y la ciática. La resina se usa para aliviar odontalgia, cicatrizar heridas y como repelente. Las ramas en infusión o maceradas en alcohol se emplean para aliviar dolores musculares y reumáticos. Los frutos frescos en infusión se toman contra la retención de orina. La planta entera se usa externamente para fracturas y como antiséptico local^{12,13}.

El AE extraído de las hojas y de los frutos poseen actividad antibacterial, antifúngica y antiviral. Existen bacterias y hongos que exhiben sensibilidad significativa al aceite esencial del Molle como por ejemplo: **Bacterias:** *Klebsiella pneumoniae*, *Alcaligenes faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Leuconostoc cremoris*, *Enterobacter aerogenes*, *Proteus vulgaris*, *Clostridium sporogenes*, *Acinetobacter calcoacetica*, *Escherichia coli*, *Beneckea natriegens*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *Bacillus subtilis* y *Brochothrix thermosphacata*. **Hongos:** *Aspergillus ochraceus*, *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium culmorum*¹² y *Alternaria alternata*¹³ y *Candida albicans*²¹.

Según Dellacassa, en la comunidad indígena del Cuzco (Perú) se registraron diversos empleos tradicionales de distintas partes de la planta de *Schinus molle* L. principalmente de las hojas y frutos para uso externo e interno³¹ como se apreciar en la tabla 1.

Tabla 1. Partes de la planta de molle utilizado en la medicina tradicional del Cuzco (Perú)³¹.

| Parte de la planta | Forma de preparación | uso | Descripción terapéutica |
|--------------------|----------------------|---------|--|
| Planta entera | Decocción | Externo | Antipirético (Hervido en baños) |
| Hojas | Decocción | Externo | Aplicado en fracturas |
| Ramas jóvenes | Emplastos | Externo | Antiséptico veterinario |
| Hojas | Decocción | Interno | Antiséptico de la cavidad oral |
| Hojas | Decocción | Interno | Hipotensora y para gonorrea |
| Hojas | Infusión | Interno | Antirreumático, condimento culinario (picante) |
| Hojas y frutos | Decocción | Interno | - |
| Frutos | Decocción | - | - |

2.2.13. Composición del AE extraído de frutos secos y hojas de molle en el Perú.

Se ha obtenido aceite esencial del molle colectado en pisos altitudinales de aproximadamente 2,800 msnm, de los Departamentos de Cajamarca, Ayacucho y Junín (Sierra Central). Sin embargo, la naturaleza de los compuestos mayoritarios no coincide en ambos aceites esenciales. En los frutos se identificaron 11 compuestos: seis monoterpenos, el octanoato de metilo y cuatro sesquiterpenos. Los que caracterizan al aceite esencial son: α -felandreno, β -pineno, limoneno y β -felandreno. En el aceite esencial de hojas se identificaron trece monoterpenos, un alcohol monoterpénico, tres sesquiterpenos y seis alcoholes y un epóxido sesquiterpénicos. El compuesto mayoritario del aceite esencial de las hojas es sabineno³¹.

Según Dellacassa, los componentes químicos presentes en el AE extraído de los frutos y las hojas del molle son los que se observan en la tabla 2.

Tabla 2. Composición del AE de frutos secos y hojas del molle de Perú³¹.

| Compuestos | Porcentaje | |
|---|-------------|--------------|
| | AE de hojas | AE de frutos |
| Triciclono | 0,8 | - |
| α -thujeno | 0,9 | - |
| α -pineno | 4,5 | 2,8 |
| Canfeno | 6,1 | - |
| Sabineno | 19,1 | - |
| β -pineno | 2,5 | 27,5 |
| Mirceno | 1,0 | - |
| α -felandreno | 4,3 | 30,9 |
| α -terpineno | 1,6 | - |
| ρ - cimeno | 7,9 | 3,9 |
| Limoneno | 7,2 | 15,3 |
| β -felandreno | 3,2 | 12,5 |
| ρ -menta-1,4(8)-dieno | 3,2 | - |
| Octanoato de metilo | 2,9 | - |
| Γ -cariofileno | - | 1,3 |
| Δ -cadineno | 8,2 | 2,7 |
| Oxido de cariofileno | 0,9 | - |
| D-germacreno | 1,5 | 0,4 |
| - germacreno | - | 1,7 |
| Spathulenol | 6,0 | - |
| α -cadinol | 1,5 | - |
| 1,2,3,4a,5,6,8a-octahidro-a´a´,4a,8-tetrametil-2-naftalenometanol | 4,8 | - |
| T-cadinol | 1,9 | - |

2.3. Aceite esencial (AE)

Es una mezcla compleja de sustancias aromáticas responsables de las fragancias. Poseen numerosas acciones farmacológicas, por lo que constituyen la base de la aromaterapia, además es ampliamente utilizado en las industrias (cosmética, farmacéutica, alimentaria, licorería y confitería) y tratamientos aromaterapéuticos³².

Antiguamente los griegos solían llamar al AE “*la quinta esencia*”, porque se producían en cantidades apreciables (0,5 a 6%) en las llamadas plantas “aromáticas”, aquellas que generalmente son hierbas o arbustos³³. Asimismo, en los países de África, Asia e India el AE fue utilizado por sus componentes químicos las cuales poseían enormes cantidades de propiedades terapéuticas³⁴.

Actualmente el AE es utilizado en la medicina complementaria como una alternativa terapéutica en los centros de salud, por sus actividades biológicas reconocidas.

2.3.1. Propiedades fisicoquímicas del aceite esencial (AE).

Las principales propiedades fisicoquímicas del AE son las siguientes: Su color ligeramente amarillo transparente, su olor herbáceo pronunciado, aromático mentolado penetrante; su sabor cáustico, irritante, astringente, a veces dulce o amargo y otras con sensación a fármaco; su densidad suele ser inferior a la del agua. El AE es de peso específico entre 0,8 a 2,0 a temperatura de 15°C; con punto de ebullición de 150 a 300°C; índice de refracción de 1,45 a 1,5. Además, se alteran fácilmente bajo la acción de la luz y el oxígeno tornándose oscuros y modificándose su perfume. El AE es volátil, lo que significa que pasan fácilmente del estado líquido al estado gaseoso a temperatura ambiente o algo mayor. Son solubles en aceites, alcohol, éter de petróleo, tetracloruro de carbono y demás solventes orgánicos; e insolubles en agua, aunque le transmite su aroma. Son generalmente destilables por arrastre con vapor de agua y contienen las sustancias responsables del perfume de las plantas. Algunos tienen colores y sabores agradables. Es de aspecto oleoso, pero no es del todo aceitoso, sino que es un fluido como agua. La ruptura de las glándulas del AE o simplemente la exposición al calor ayudará a emitir estos olores de esencias volátiles. Ésta es una de las razones por las que se experimentan más fragancias en verano que en invierno. Obviamente hay pocas plantas que florecen en invierno, pero también es porque el tiempo es más frío y el aire más denso, por lo que las moléculas se están moviendo a una velocidad más lenta y el AE es menos evaporable. Esto hace que sea más difícil percibir su olor²⁸.

2.3.2. Propiedades terapéuticas del aceite esencial (AE).

El AE tiene variada actividad biológica ya que sus componentes pueden ser agentes antibacterianos, antifúngicos, antivirales, antidiabéticos, depresores, estimulantes, antiinflamatorios, analgésicos, antioxidantes, tranquilizante, citotóxico, etc³³.

2.3.3. Composición química general del aceite esencial (AE).

El AE obtenido de plantas aromáticas, están formados en su mayoría por hidrocarburos terpénicos o terpenoides (monoterpenos ($C_{10}H_{16}$) y sesquiterpenos ($C_{15}H_{24}$)), monoterpenos oxigenados (alcoholes, aldehídos, cetonas y otros) y compuestos oxigenados no terpénicos (fenoles, éteres y cumarinas)³³, como se observa en la figura 2.

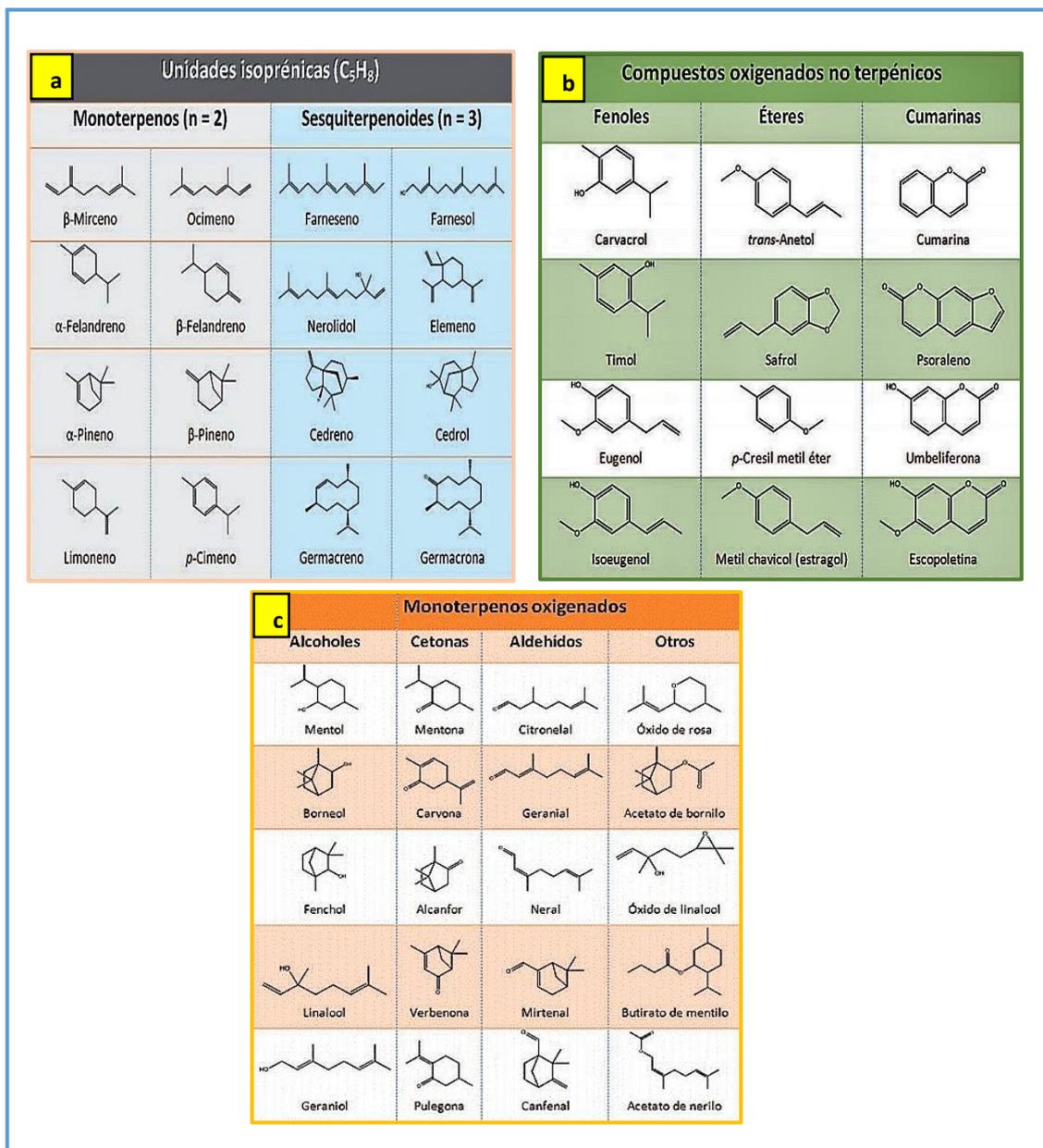


Figura 2. Algunos compuestos químicos presentes en el AE³³.

- a) Hidrocarburos monoterpénicos y sesquiterpenoides presentes en el AE.
- b) Compuestos oxigenados no terpénicos presentes en el AE.
- c) Algunos monoterpénicos oxigenados presentes en el AE.

2.4. *Candida albicans*

Es un hongo polimórfico debido a que puede presentar morfología levaduriforme o bien crecer como hongo filamentosos formando hifas verdaderas. Se considera un comensal oportunista porque existe como parte de la microbiota del área mucocutánea, gastrointestinal y genitourinaria en el ser humano sano y coloniza las membranas mucosas en un 30 a 60% de las personas. Bajo ciertas condiciones del hospedero susceptible es capaz de causar infecciones superficiales y sistémicas, siendo el hongo patógeno principal del ser humano². Las micosis oportunistas representan todo un grupo de afecciones; el hongo normalmente no

produce daño, sin embargo, cuando tienen la oportunidad genera daño. Se da cuando hay factores de inmunosupresión o que favorezcan su multiplicación o situaciones crónicas debilitantes que hacen que el individuo se defienda inadecuadamente o por el uso de algunos productos como inmunosupresores, corticoides o quimioterapia, todas ellas agreden al sistema de defensa y lo abaten; generando la micosis oportunista más frecuentes producida por el género *Candida* (candidiasis)³⁵.

2.4.1. Clasificación taxonómica

Dominio: *Eucarya*

Reino: *Fungi*

División: *Eumycota*

Subdivisión: *Deuteromycotina*

Clase: *Blastomycetes*

Familia: *Cryptococaceae*

Género: *Candida*

Especies: *C. albicans*³⁶.

2.4.2. Pared celular de la levadura de *Candida albicans*

Posee una pared celular externa esencial para la integridad y forma de la célula. La rigidez de la pared no solo protege a la célula de agresiones físicas externas, sino que también resiste la presión de turgencia del protoplasto y evita la lisis de la célula cuando ocurren descensos en la osmolaridad del medio. También actúa como barrera frente a sustancias potencialmente dañinas del medio ambiente y evita que proteínas periplasmáticas sean secretadas al exterior. Además, sirve de substrato para la exposición de proteínas que juegan un papel importante en interacciones de célula a célula ya sean de carácter sexual, inmunogénico o inmunomodulador. La pared celular constituye aproximadamente un 30% del peso de la célula, está compuesta principalmente por tres clases de polímeros de naturaleza polisacáridica: polímeros de manosa (manano) covalentemente unidos a péptidos (manoproteínas), polímeros de glucosa (glucanos) y un polímero de N-acetil-glucosamina (quitina), estos componentes conforman una estructura con dos capas, donde las proteínas están mayoritariamente en la superficie externa y el glucano en la parte interna³⁶.

2.4.3. Aspectos micológicos

El género *Candida* es una levadura capaz de producir pseudomicelio. *Candida* es un microorganismo unicelular globoso y ovoide de 3 a 7 µg, en la figura 3 se observa directamente en los tejidos del huésped como levaduras pseudofilamentoso. Para su

identificación específica, se realizan pruebas fisiológicas como la producción de pseudomicelio, el desarrollo de tubos germinativos, la formación de clamidosporas mediante las técnicas de zimograma o auxonograma³⁵.

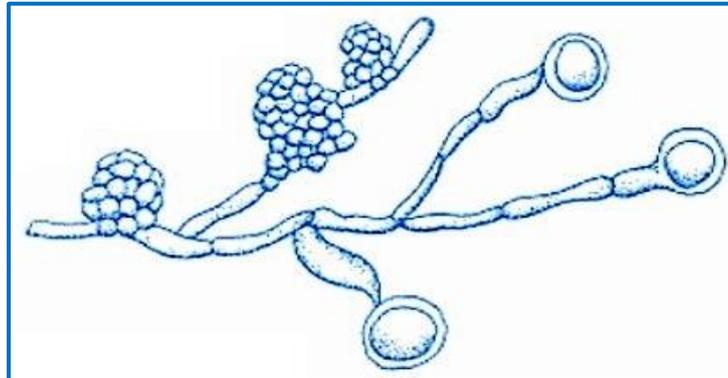


Figura 3. Levadura con pseudofilamentos del género *Candida*³⁵.

2.4.4. Candidiasis: Es una infección de la piel o de las mucosas producida por hongos del género *Candida*.

- a) **Epidemiología:** Epidemiológicamente la candidiasis es un padecimiento cosmopolita, sin tener una predicción en cuanto a la edad o sexo ataca por igual siempre y cuando se presentan los factores de oportunidad. La fuente de infección es el hombre, los animales y los fomites. La vía de entrada es endógena, es decir que el individuo tiene el hongo alojado en una parte de su cuerpo y de ahí invade a otros tejidos cuando existe la oportunidad³⁵. Su incidencia ha aumentado considerablemente en los últimos 20 años, causando el 7,45% de micosis, el 25% de micosis superficiales y entre el 75 y 88% de infecciones fúngicas nosocomiales que afecta a individuos de cualquier edad, sexo o grupo étnico³⁵.
- b) **Patogenia:** En el desarrollo de la enfermedad de candidiasis es necesario la presencia de factores oportunistas. Si la infección es de forma endógena, se debe a la respuesta inmune inadecuada o bien cambios tópicos específicos en un sitio anatómico con variación de pH, disminución de bacterias defensoras propios del organismo, etc. Por lo contrario, si la infección es de forma exógena requiere de un inóculo fúngico habitualmente aplicado a través de sondas, catéteres o procedimientos de diagnósticos o terapéuticos invasivos³⁵.
- c) **Manifestaciones clínicas:** La candidiasis se clasifica clínicamente por su localización, incluyendo tres grandes grupos: La tegumentaria, la visceral y la septicemia o candidemia. La más frecuente y la menos dramática es la tegumentaria que a su vez se clasifica en diferentes cuadros por su localización en: Oral, vulvovaginal, intertriginosa, oniquia o paroniquia, cutáneo, mucosa generalizada y granuloma³⁵.

2.4.5. Candidiasis vulvovaginal (CVV): Es una infección vaginal ocasionada por hongos del género *Candida albicans* que se encuentra en un 85-95% de los casos de candidiasis, afectando hasta el 75% de las mujeres en edad reproductiva, comprendidas entre 20 y 45 años, que sufren al menos un episodio micótico durante su vida. Esta enfermedad es la segunda causa de infecciones vaginales, siendo precedida por la vaginosis bacteriana y es la razón más usual de consultas ginecológicas^{8,9}.

a) Síntomas de CVV: Los síntomas predominantes son: enrojecimiento y edema en los labios menores de la vagina y/o de la vulva, inflamación, prurito vulvar está presente en un 90% de los casos, quemazón, leucorrea grumosa blanca que está muy adherida a la pared vaginal, polaquiuria, dispareunia y disuria. También hay lesiones en la vulva y en el periné secundario al raspado que se observan como escoriaciones^{8,37}.

b) Factores predisponentes de CVV

- ✓ **Gestación:** La presencia de micelios en la vagina es muy frecuente y aumenta en el transcurso de la gestación. Por lo tanto, el recién nacido es portador de *Candidas* en las primeras semanas en la boca o en la región anogenital³⁷.
- ✓ **Tabletas anticonceptivas:** Las hormonas como progestágenos y los antiandrógenos tienen influencia en el medio ambiente vaginal, modifica el pH, el contenido del glucógeno, favorece la receptibilidad celular y son responsables de los trastornos del epitelio vaginal³⁷.
- ✓ **Antibióticos:** Existen antibióticos que al ser consumidos como parte de la terapia pueden generar infecciones micóticas³⁷.
- ✓ **Diabetes mellitus:** Es muy probable que la diabetes no tratada se enfrente a infecciones micóticas por la sobrecarga de glucosa³⁷.
- ✓ **Ciertas vestimentas:** Es muy común que las ropas interiores sintéticas y pantalones ajustados reducen la ventilación aumentando la humedad y el calor de la región anovulvar lo que hace muy propenso a la invasión micótica. Asimismo, los aerosoles vulvares son también irritante para la piel y las duchas vaginales modifican el pH³⁷.

c) Tratamiento de CVV

Desde la antigüedad se buscó remedios adecuados para suprimir el desarrollo de la *Candida* con extracto de ajo, en 1932 a 1952 se utilizaron colorantes como la violeta de genciana al 2%, piocetamin, verde brillante, también se utilizó el ácido bórico. Asimismo, se intentó combatir con antimicóticos específicos como los polienos (Nistatina) sin obtener mayor resultado. Sin embargo, con la llegada de los Azoles (imidazoles y triazoles) se consiguió buenos resultados³⁷, entre ellos el

itraconazol que logra tasas de curaciones superiores a 90%, con una dosis de 200 mg cada 24 horas por tres días. El tratamiento por vía oral es superior a la vía local con clotrimazol o fluconazol, los cuales se asocian a 70% de curación, semejante al de nistatina siempre y cuando éste se administre durante 14 días, la tasa de curación mejora tratando a la pareja sexual³⁸.

Actualmente, la candidiasis se ha convertido en un problema social y es muy difícil de tratar de manera definitiva por la resistencia al antimicótico³⁷.

2.4.6. Candidiasis vulvovaginal recurrente o recidivante (CVVR): Se define de cuatro a más episodios de candidiasis vulvovaginal en un año¹⁵.

Tratamiento de la CVVR: La norma oficial mexicana solo contempla el tratamiento para la vulvovaginitis no complicada y recomienda cualquiera de los siguientes esquemas: Itraconazol 200 mg VO cada 12 horas por un día, Fluconazol 150 mg VO dosis única y óvulos de Clotrimazol 200 mg vía vaginal por 3 días o Miconazol crema vulvovaginal por 14 días seguido, este tratamiento de mantenimiento posee una efectividad terapéutica de 90% a 6 meses y 40% por un año¹⁵.

2.4.7. Resistencia de levaduras de *Candida* al fluconazol (FCZ)

En la actualidad la levaduras de *Candida* poseen capacidad de resistir al medicamento FCZ en un 3% y el 10% de los pacientes con sida y candidiasis mucocutánea presentan resistencia al FCZ antes del surgimiento de la terapia antirretroviral altamente efectiva (TARAE), la cual se relacionó con las dosis administradas o la duración del tratamiento, por lo que se interpretó como un tipo de resistencia adquirida³⁹.

Mecanismo de resistencia al FCZ: Los derivados triazólicos como el Fluconazol (FCZ) inhibe de forma selectiva a la enzima 14- α esterol desmetilasa en la síntesis del ergosterol que es dependiente del citocromo P450. La depleción del ergosterol en conjunto con la acumulación de compuestos intermedios en la síntesis del mismo conlleva a una pérdida de la funcionalidad de la membrana plasmática.

La resistencia al FCZ se da por tres posibles mecanismos:

1. Modificación de las enzimas.
2. La incapacidad de alcanzar concentraciones adecuadas del antimicótico en el sitio de acción por la presencia de barreras de permeabilidad o sistema de bombeo activo.
3. La inactivación del antimicótico por modificación del mismo³⁹.

2.5. Sensibilidad a los antifúngicos (Antifungigrama)

Es una prueba *in vitro* orientada para determinar concentraciones mínimas inhibitorias de agentes antifúngicos. Sirve para emplear tratamientos específicos, erradicar las enfermedades fúngicas y prevenir la resistencia de agentes antimicóticos. En los últimos años se ha progresado en la estandarización de las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, lo que ha permitido resultados más reproducibles y comparables entre laboratorios y secundariamente efectuar estudios clínicos multicéntricos que han facilitado la interpretación de los resultados *in vitro* en relación con la eficacia del antifúngico en el tratamiento⁴⁰.

2.6. Halos de inhibición:

Es la zona en la cual no se observa crecimiento del microorganismo alrededor de un disco de antibióticos en una prueba de antifungigrama⁴¹.

2.7. Valores de sensibilidad en el Aromatograma según Duraffourd:

Las pautas establecidas por Duraffourd en 1983, son utilizadas en estudios microbiológicos para la interpretación de resultados en la evaluación de diámetros de inhibición tipo cuantitativa.

- 1. Sensibilidad nula (-) ≤ 8 mm**
- 2. Sensibilidad límite o sensible (=+) **9-14 mm****
- 3. Muy sensible (=++) **15-19 mm****
- 4. Sumamente sensible (=+++)** ≥ 20 mm^{16,42}.

III. MATERIAL Y MÉTODO

3.1. Tipo y diseño

3.1.1. Tipo de investigación

- **Según su estrategia aplicada: Experimental**, debido a que los grupos de prueba fueron expuestos a los estímulos experimentales y los resultados se compararon con los grupos controles.
- **Según su nivel y alcance de sus resultados: Explicativa**, debido a que permitió interpretar los resultados en el estudio.
- **Según su tendencia o enfoque: Cuantitativa**, debido a que se evaluó el efecto antimicótico del AE en diferentes concentraciones (40, 60, 80 y 100%).
- **Según el propósito u orientación: Aplicada**, debido a que se buscó obtener una alternativa natural de tratamiento antimicótico para la CVV.

3.1.2. Diseño de investigación

- **Experimental:** Debido a que se manipuló de manera intencional la variable independiente (causa) y se analizó las consecuencias de la variable dependiente (efecto).

Se evaluó tres grupos de prueba: 1) Grupos de prueba (discos de papel Whatman embebidos con el AE de *Schinus molle* L. a 40, 60, 80 y 100%), 2) Grupo control positivo (discos de fluconazol 25 µg) y 3) y Grupo control negativo (dimetilsulfóxido).

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

Frutos maduros de *Schinus molle* L. (Molle) provenientes del distrito de Pacaycasa (Ayacucho).

3.2.2. Muestra

Aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) proveniente del distrito de Pacaycasa (Ayacucho).

3.3. Criterios de inclusión y exclusión

a) Criterios de inclusión

- Fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) perteneciente al distrito de Pacaycasa (Ayacucho).
- Fruto maduro de *Schinus molle* L en buen estado de conservación.

b) Criterios de exclusión

- Fruto de *Schinus molle* L. (Molle) no perteneciente al distrito de Pacaycasa (Ayacucho).
- Fruto maduro de *Schinus molle* L en mal estado de conservación.

3.4. Metodología

3.4.1. Materiales y equipo para la extracción del AE

- Equipo eléctrico: destilador por arrastre de vapor industrial de acero inoxidable marca “Yuewo”.
- Molino manual marca “Corola”.
- Tazón grande de porcelana marca “Corola”.

3.4.2. Materiales y solventes para la caracterización fisicoquímica del AE

a) Materiales:

- Picnómetro de 30 mL marca “Brand GMBL”.
- Vaso de precipitado marca “Citotest”.
- Tiras medidoras de pH marca “OF”.
- Pipeta de Pasteur.
- Bagueta o varilla de vidrio.
- Tubos de ensayo 12 x 100 mm.
- Tazón grande de porcelana marca “Corola”.

b) Solventes:

- Agua destilada.
- Cloroformo Q.P.
- Etanol Q.P.
- Metanol Q.P.
- DMSO (dimetilsulfóxido) Q.P.

3.4.3. Material y equipo para el análisis cualitativo de componentes químicos presente en el AE

- Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masa Agilent Technologies 5975C.
- Capilares de vidrio.

3.4.4. Materiales y equipo para la prueba de actividad antimicótica del AE frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

a) Materiales:

- 1 vernier digital marca “Caliper”, modelo: DC-515.
- 18 placas Petri de vidrio estériles 90 mm de diámetro x 15 mm de altura.
- Espátula de Drigalsky.
- Tubos de ensayo 15 x 1,5 cm.
- Puntas para micropipeta de 30 μ L y 100 μ L marca “Brand”.
- Micropipetas calibradas de 30 μ L y 100 μ L marca “CLINIPET”.
- 54 discos de papel filtro marca “Whatman” N° 10 de 6 mm de diámetro.
- 1 frasco de vidrio con tapa rosca de 500 mL.
- 6 viales de vidrio de 10 mL.
- 1 gradilla.
- 12 pares de guantes estériles.
- 10 cofias.
- 1 paquete de algodón 250 g.
- Patrón del estándar McFarland.

b) Equipos:

- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4.
- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15.
- Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849.
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363.
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480.
- Mechero Bunsen.

c) Insumos:

- ✓ **Medios de cultivo:** Agar Sabouraud Dextrosa (OXOID) 500 g.
- ✓ **Inóculo:** *Candida albicans* ATCC 10231 pasaje 3, Biomédica Profile: Vitek 2CYST.
- ✓ **Reactivos:** Etanol 96° 1 Lt, suero fisiológico estéril (NaCl 0.9%) 1 Lt y Dimetilsulfóxido (DMSO).

3.4.5. **Recolección, limpieza y transporte del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle)**

Recolección: La muestra del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) se recolectó por la mañana, en el departamento de Ayacucho, provincia de Huamanga, distrito de Pacaycasa (2,535 msnm). Las ramas del arbusto fueron quebradas manualmente de diferentes partes de la planta y se separaron los racimos que contenían los frutos, luego fueron colocados en una canasta para evitar que se maltraten. Se recolectó aproximadamente 10 kg de la muestra, ver anexo 10,1.

Limpieza: De los racimos recolectados de los frutos de *Schinus molle* L. (Molle), se separaron y se descartaron las hojas y los tallos, obteniéndose 8 kg de la muestra.

Transporte: Se almacenó los frutos escogidos en una canasta y se acondicionó para su traslado de Ayacucho a Lima.

3.4.6. **Extracción del AE de *Schinus molle* L. (Molle)**

Primero se realizaron operaciones previas para la obtención del AE.

Selección: Se procedió a seleccionar manualmente y se descartó restos de tallos, drupas verdes y drupas maduras deterioradas. Las drupas seleccionadas en buen estado de conservación pesaron 7 kg, ver anexo 10,2.

Lavado: En un tazón de porcelana se realizó el lavado de las drupas maduras seleccionadas del Molle con agua a temperatura ambiente (20-25°C), para eliminar la suciedad del polvo, restos de azúcares y residuos presentes en la parte superficial de cada drupa.

Secado: Se secó las drupas maduras durante 15 días, a temperatura ambiente (20-25°C) y bajo sombra. Finalmente se obtuvo 4 kg de los frutos secos, ver anexo 10,3.

Pesado: Los frutos secos de *Schinus molle* L. (Molle), fueron pesados con una balanza digital marca “Fénix” con capacidad disponible de 15 kg.

Molienda: Con la ayuda de un molino manual marca “Corola”, se realizó el proceso de molienda gruesa de los frutos maduros secos, para desprender la cáscara de los frutos secos sin maltratar la semilla con el propósito de facilitar el paso del vapor y obtener rendimientos óptimos de aceite esencial.

Extracción del AE con la técnica de destilación por arrastre de vapor: Esta técnica se utiliza para separar sustancias orgánicas insolubles en agua, ligeramente volátiles y no volátiles que se encuentran en una mezcla. Asimismo, se utiliza para la extracción de AE de tejidos vegetales⁴³.

- ✓ **Fundamento:** Consiste en la vaporización selectiva de los componentes de una mezcla formadas por compuestos volátiles y no volátiles, este se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente a la muestra vegetal en la cual los componentes volátiles que se desprenden de ella y se condensan en el refrigerante,

obteniéndose de forma líquida dos fases inmiscible (orgánica y acuosa), las cuales serán decantadas⁴³.

Se realizó la extracción del AE utilizando 4 kg de la muestra seca y molida, en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, utilizando un destilador industrial de acero por arrastre de vapor. El equipo estuvo compuesto por un generador eléctrico de vapor (balón de acero con fondo plano de 4 Lt de capacidad), un alambique extractor (balón de acero en forma de cilindro de 5 Kg de capacidad) en el cual se depositó la muestra, un condensador de doble tubo de tránsito (refrigerante). Se recibió el aceite esencial extraído en un vaso florentino de 250 mL de capacidad y luego se trasvasó a una pera decantadora para separar el aceite esencial del agua proveniente del vapor como se observar en las figuras 4 y 5.



Figura 4. Equipo destilador por arrastre de vapor, cortesía del Ing. Pedro Romero y Otiniano – UNMSM

Generador de vapor (1), alambique extractor (2), condensador de doble tubo de tránsito (refrigerante) (3), vaso florentino (4), vaso de precipitado (5).



Figura 5. Decantación del AE de *Schinus molle* L. (Molle)

Envasado: Se envasó el AE extraído en frascos de vidrio color ámbar de diferentes tamaños (50, 30, 20, 10 y 5 mL) para evitar su volatilización, degradación y deterioro por los rayos UV y el oxígeno.

Rotulado: Se procedió a realizar el rotulado correspondiente a todos los frascos ámbar con el AE obtenido, ver anexo 10,4.

Almacenado: Se almacenó bajo condiciones de refrigeración (2-8°C)²⁴ hasta la realización de los análisis correspondientes.

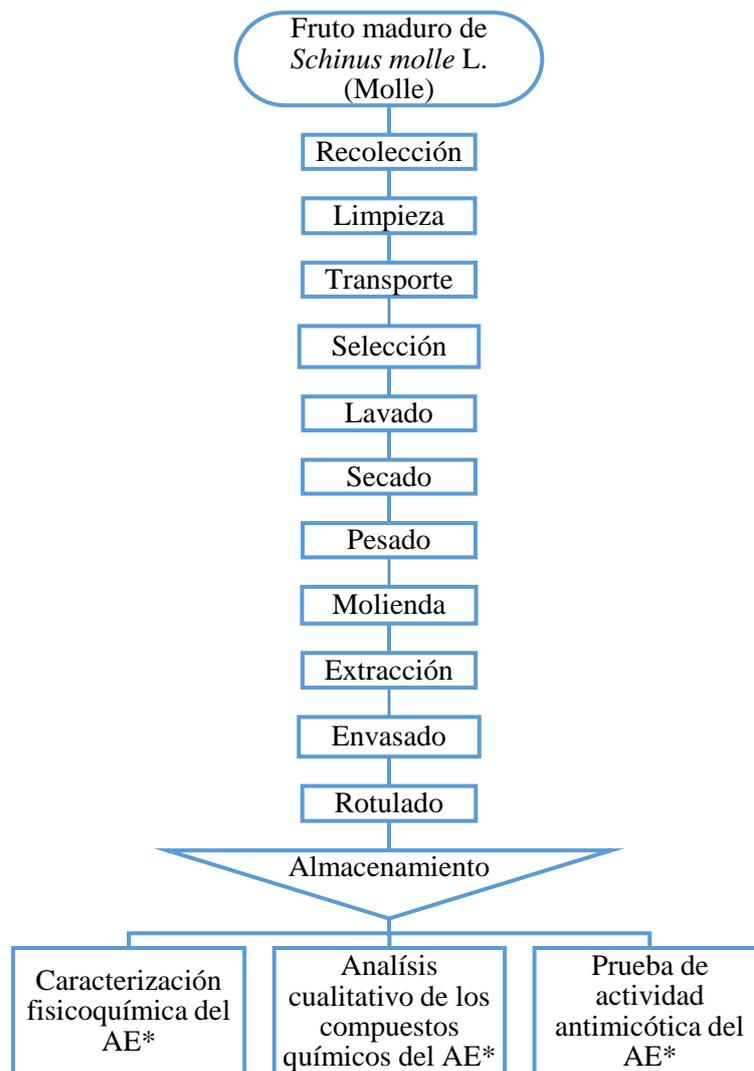


Figura 6. Flujograma del proceso de recolección, extracción y análisis posteriores de la especie de *Schinus molle* L. (Molle)

3.4.7. Caracterización fisicoquímica del AE de *Schinus molle* L. (Molle)

La caracterización fisicoquímica y la prueba de actividad antimicótica, se desarrollaron en las áreas de Fisicoquímica y Microbiológica del Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

Análisis organolépticos: Se realizó el análisis organoléptico del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle), describiéndose el color, olor y sabor, como se observa en la figura 7.

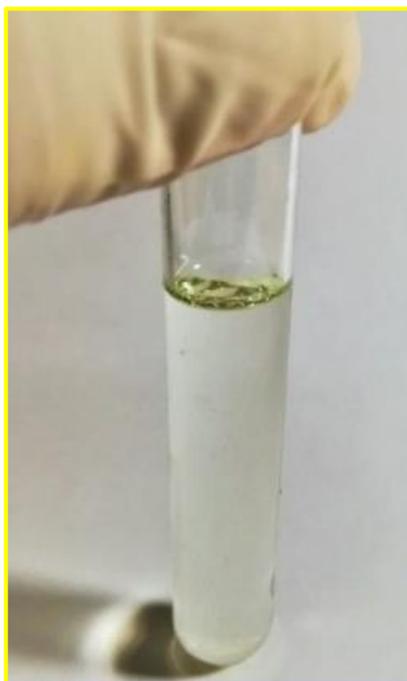


Figura 7: Aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle).

Evaluación del rendimiento: Se determinó la evaluación del rendimiento de la muestra empleada (4 kg) en porcentaje, tal como se indica en la ecuación 1⁴⁸.

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{\text{masa del aceite esencial}}{\text{masa de la materia prima}} \times 100$$

Ecuación 1

Determinación de la densidad: La densidad (d), se define como la cantidad de masa (m) o peso por unidad de volumen (V), siendo las unidades de medida en el sistema internacional (S.I.) de gramos por mililitros (g/mL) o gramos por centímetros cúbicos (g/cm³)⁴⁴. La densidad se determina con la ecuación 2.

$$d = \frac{m}{v}$$

Ecuación 2.

La densidad se puede determinar por diversos métodos, uno de ellos es el método del picnómetro, el cual sirve para establecer criterios de pureza de un líquido. Para este método se emplea la ecuación 3.

$$\rho_L = \frac{\omega_{pl} - \omega_{pic}}{V_{pic}}$$

Ecuación 3

Donde:

ρ_L : Densidad de líquido.

ω_{pl} : Masa del picnómetro con el líquido.

ω_{pic} : Masa del picnómetro vacío.

V_{pic} : Volumen del picnómetro⁴⁵.

La densidad del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle) se determinó empleando el método del picnómetro. Con un picnómetro de 30 mL; el procedimiento se realizó por triplicado.

Determinación del pH: El pH, es la medida de la acidez o basicidad de una solución en una muestra problema. El pH determina muchas características notables de la estructura y actividad de las biomoléculas, especialmente las enzimas, células, organismos y microorganismos. Químicamente el pH se define como la concentración de iones o cationes de hidrógenos (H^+) presentes en determinada sustancia⁴⁶.

Se realizó la medición del pH del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle), sumergiendo directamente la tira medidora de pH marca “OF” en el tubo de ensayo conteniendo la muestra y se comparó con los colores estándares establecidos en el estuche de las tiras medidoras de pH.

Prueba de solubilidad: La solubilidad, es un término que se emplea para evaluar la capacidad de disolverse de una sustancia problema en otra al ser mezclado⁴⁷.

Para determinar la solubilidad del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle), se trasvasó con la pipeta Pasteur 1 mL de la muestra en cada tubo de ensayo previamente rotulado, luego se añadió 1 mL de cada solvente, se observó y se registró los resultados.

3.4.8. Análisis cualitativo de los componentes químicos presentes en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) por GC/MS

Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masa (GC/MS): Es una técnica que combina técnicas que constituyen una herramienta potente, trabaja en fase gaseosa y sirve para separar, identificar y cuantificar los componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas⁴⁸.

✓ **Fundamento:** Consiste en inyectar una mezcla de compuestos en la cámara de vaporización, luego los gases de la muestra son arrastrados por la fase móvil (helio), a través de las columnas capilares se separan los compuestos químicos, obteniendo la elución sucesiva de los componentes individuales aislados según su peso molecular, luego pasan al espectrómetro de masa para ser identificados y

cuantificados; se registran los picos de cada uno de los metabolitos en el cromatograma mediante fuentes de ionización⁴⁸.

Para la identificación de los compuestos químicos presentes en el aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle), se llevó la 5 mL de muestra a la Unidad de Investigación en Productos Naturales de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, para su respectiva corrida en el equipo Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C. Los resultados obtenidos se presentan en el certificado que figura en el anexo 5.

3.4.9. Actividad antimicótica del AE de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

La evaluación de la prueba de actividad antimicótica del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, se realizó en un ambiente limpio con materiales estériles, mechero bunsen encendido y con las respectivas medidas de protección personal, para evitar ser contaminado por el microorganismo de prueba.

Actividad antimicótica

Método: método de Kirby- Bauer (difusión en disco): Este es un método cualitativo, que se caracteriza por ser fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismos no exigentes de crecimiento rápido⁴⁹.

✓ **Fundamento:** Consiste en depositar sobre la superficie de una placa de agar previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnado con el agente antifúngico. Este disco se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurrido un periodo de tiempo de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento fúngico⁴⁹.

Técnica: Inoculación en placa⁵⁰.

Preparación de las diluciones del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle): Se realizó las diluciones a partir del aceite esencial puro, utilizando el diluyente dimetilsulfóxido (DMSO) de la siguiente manera:

40%: se colocó 0,4 mL del aceite en un vial de vidrio y se añadió 0,6 mL de dimetilsulfóxido.

60%: se colocó 0,6 mL del aceite en un vial de vidrio y se añadió 0,4 mL de dimetilsulfóxido.

80%: se colocó 0,8 mL del aceite en un vial de vidrio y se añadió 0,2 mL de dimetilsulfóxido.

100%: Se empleó el aceite esencial puro.

El diluyente dimetilsulfóxido (DMSO) se utilizó como control negativo para las pruebas microbiológicas.

Preparación del medio de cultivo: Se preparó un volumen total de 400 mL del medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa. Para lo cual se pesó 26 g del medio de cultivo sólido y se reconstituyó con agua destilada en un volumen de 374 mL, seguidamente se midió el pH sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro hallando un pH de 7,3; luego se llevó a esterilizar en el autoclave a 121°C a 151 b/pg² durante 15 minutos, y se dejó enfriar en baño maría a 45°C, posteriormente se trasvasó el agar en frasco de vidrio estéril con tapa rosca de 500 ml de capacidad y se reservó, ver anexo 11,1.

Preparación del inóculo micótico: A partir de colonias puras del microorganismo *Candida albicans* ATCC 10231, se tomó con el asa de siembra una cierta cantidad de colonias y se inoculó en 10 mL de suero fisiológico (cloruro de sodio 0,9%) contenido en un tubo de ensayo, de ahí se sometió a diluciones hasta encontrar una turbidez de la suspensión micótica muy cercana a la escala de McFarland al 0,5 que corresponde aproximadamente a una suspensión homogénea de 1×10^8 UFC/mL⁵¹, se cubrió con una tapa el tubo de ensayo conteniendo la suspensión micótica y se reservó.

Preparación de los discos de sensibilidad: Se emplearon 54 discos de papel Whatman N°10 de 6 mm de diámetro, seguidamente se procedieron a esterilizar en autoclave a temperatura 121°C por 15 minutos y se almacenó en una placa Petri para su enfriamiento, luego en cada disco se inoculó 30 µL del AE esencial a diferentes concentraciones para que estuviesen empapados de la muestra problema.

Los discos utilizados como control positivo fueron 9 discos comerciales de Fluconazol 25 µg.

Inoculación en placas: Se vertió aproximadamente entre 15 a 20 mL del medio de cultivo preparado en cada una de las placas Petri, luego se inoculó 100 µL del inóculo preparado en cada una de las placas Petri y con la ayuda de la espátula de Drigalsky se esparció el inóculo por toda la placa Petri en forma pareja y bien compactada, luego se rotó la placa en dos oportunidades y se continuó esparciendo la cepa en estudio con la finalidad de obtener crecimientos homogéneos, se dejó secar por 3 a 5 minutos.

Aplicación de los discos a la placa inoculada: Con la ayuda de una pinza estéril, se introdujo tres discos Whatman empapados de AE *Schinus molle* L. sobre la superficie del agar solidificado, con la finalidad de obtener resultados por triplicado, estos discos estuvieron a más de 15 mm de distancia del borde de la placa y de disco a disco para evitar superposiciones cuando se produzca la formación de los halos de inhibición. Seguidamente se presionó suavemente con la pinza estéril los discos para que queden adheridos sobre el agar solidificado, se rotuló la placa Petri y se llevó a incubar a 36°C

durante un periodo de 24, 48 a 72 horas. El mismo procedimiento se empleó para el control negativo, mientras que para el control positivo se introdujo directamente los discos comerciales. Se utilizó 18 placas Petri en total, 1 placa Petri para cada concentración de la muestra de prueba, para el control positivo, para el control negativo y una placa Petri por cada periodo de lectura, ver anexo 11,2 y 11,3.

Medición de los halos de inhibición: Después de las 24, 48 y 72 horas de incubación, cada una de las placas Petri fueron examinadas visualmente y las zonas de inhibición fueron medidas en milímetros (mm), pasando por el centro del disco con la ayuda de un vernier digital marca “Caliper”. Los valores de la medición por triplicado fueron promediados y comparados con las medidas de los halos de inhibición de los controles (positivo y negativo), ver anexo 11,4.

3.5. Instrumentos y procesamientos de recolección de datos

3.5.1. Técnica: Difusión en disco⁴⁹.

3.5.2. Instrumento de medición: Se utilizó el instrumento Vernier digital marca “Caliper”, modelo: DC-515 para la medición del diámetro de las halos de inhibición.

3.5.3. Recolección de datos: Se elaboró una ficha donde se anotaron los resultados de la técnica de difusión en disco del método de Kirby-Bauer. Los valores obtenidos se recolectaron de forma manual y visión directa.

3.5.4. Procesamiento de datos: Después de 24, 48 y 72 horas de incubación, cada una de las placas Petri fueron examinadas y medidas. Se observaron las zonas de inhibición resultantes uniformemente circulares. Los diámetros de los halos de inhibición completos fueron medidos en milímetros (mm) pasando por el centro del disco. Cada valor de las mediciones por triplicado se promedió y se compararon con las medidas de los halos de inhibición de los grupos controles. Para la interpretación de los resultados se tomó como referencia los halos de inhibición según las pautas establecidas por Duraffourd en 1983, utilizadas en estudios microbiológicos²³.

1. Sensibilidad nula (-) ≤ 8 mm
2. Sensibilidad límite o sensible (=+) **9-14 mm**
3. Sensibilidad media o Muy sensible (=++) **15-19 mm**
4. Sumamente sensible (=+++) ≥ 20 mm^{16,42}.

IV. RESULTADOS

4.1. Caracterización fisicoquímica del AE de *Schinus molle* L. (Molle)

4.1.1. Análisis organoléptico: Se realizó el análisis organoléptico y se evaluó el color, aroma y sabor del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle) registrándose en la tabla 3.

Tabla 3. Característica organoléptica del AE de *Schinus molle* L. (Molle)

| Valoración cualitativa de los sentidos | Características organolépticas | AE de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) |
|--|--------------------------------|--|
| Ojo | Color | Amarillo claro. |
| | | No presenta partículas, ni restos de agua. |
| Olfato | Olor | Herbáceo mentolado y penetrante. |
| Gusto | Sabor | Astringente y ligeramente amargo. |

4.1.2. Evaluación del rendimiento: Se utilizó 4 kg de la materia prima seca y molida, del cual se obtuvo 250 mL de AE en 75 minutos. El rendimiento del AE se halló según la ecuación 1.

$$\text{Rendimiento}(\%) = \frac{0,208\text{kg}}{4\text{kg}} \times 100 = 5,2$$

Se obtuvo 5,2% de rendimiento del AE de *Schinus molle* L. (Molle).

4.1.3. Determinación de la densidad: Se determinó la densidad del AE obtenido por el método del picnómetro, según la ecuación 3.

$$\rho_{AEM} = \frac{60,034\text{ g} - 35,042\text{ g}}{30\text{ mL}} = 0,833\text{ g/mL}$$

Se obtuvo la densidad de 0,833 g/mL para el AE de *Schinus molle* L. (Molle).

4.1.4. Determinación del Ph

Se obtuvo un pH 5 para el AE de *Schinus molle* L. (Molle).

4.1.5. Prueba de solubilidad

El AE de *Schinus molle* L. (Molle) presentó solubilidad en DMSO (dimetilsulfóxido) y cloroformo, mientras que en metanol, etanol y agua se observó insolubilidad, los resultados se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Resultado de solubilidad del AE de *Schinus molle* L. (Molle)

| Prueba de solubilidad | | | | | |
|--|--|---------------------------------|----------------|---------------|-----------------------------------|
| Muestra de prueba | Solventes | | | | |
| Aceite esencial de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | DMSO (dimetilsulfóxido) (C ₂ H ₆ SO) | Cloroformo (CHCl ₃) | Metanol (MeOH) | Etanol (EtOH) | Agua destilada (H ₂ O) |
| | + | + | - | - | - |

Leyenda: Soluble (+) e insoluble (-)

4.2. Análisis cualitativo de los componentes químicos presentes en el aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle) por GC/MS

En la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC/MS) se registraron 5 picos correspondientes a los componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle), siendo los siguientes: α -Felandreno (31,62%), β -Mirceno (30,52 %), D-Limoneno (12,36%), β -Felandreno (12,08%), O-Cimeno (2,44%), como se observa en la figura 8.

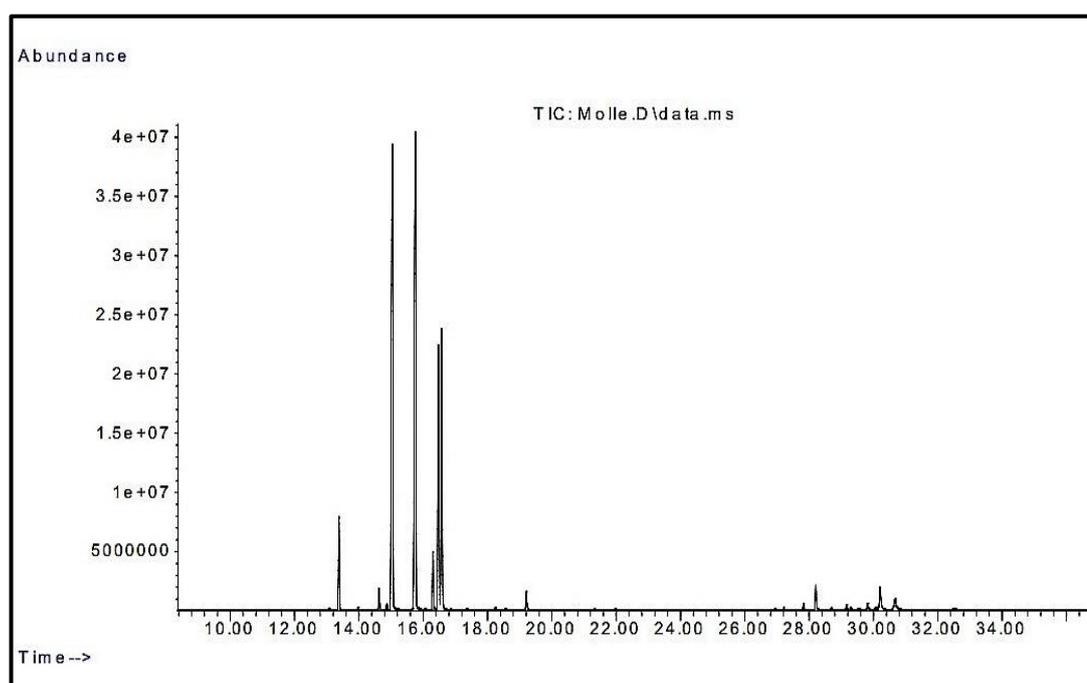


Figura 8. Compuestos químicos observados en el cromatograma del CG/SM

Asimismo, se identificaron 22 compuestos químicos que comprenden el 100% del aceite esencial de *Schinus molle* L. (Molle), mostrados en la tabla 5.

Tabla 5. Compuestos químicos presentes en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) determinado por GC/MS

| Número | Nombre del compuesto (NIST08.L) | t _R (min) | % en la muestra (áreas relativas) |
|--------|--|----------------------|-----------------------------------|
| 1 | α-Tujeno | 13,07 | 0,10 |
| 2 | α-Pineno | 13,38 | 3,66 |
| 3 | Canfeno | 13,97 | 0,14 |
| 4 | Sabineno | 14,63 | 0,85 |
| 5 | β-Pineno | 14,87 | 0,26 |
| 6 | β-Mirceno | 15,05 | 30,52 |
| 7 | α-Felandreno | 15,76 | 31,62 |
| 8 | o-Cimeno | 16,30 | 2,44 |
| 9 | D-Limoneno | 16,48 | 12,36 |
| 10 | β-Felandreno | 16,58 | 12,08 |
| 11 | 4-Careno | 18,24 | 0,13 |
| 12 | Octanoato de metilo | 19,21 | 0,88 |
| 13 | β-Elemeno | 27,21 | 0,11 |
| 14 | α-Gurjuneno | 27,83 | 0,31 |
| 15 | β-cariofileno | 28,21 | 1,16 |
| 16 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) | 28,70 | 0,08 |
| 17 | α-Cariofileno | 29,16 | 0,24 |
| 18 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) | 29,29 | 0,11 |
| 19 | Germacreno D | 29,82 | 0,33 |
| 20 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) | 30,07 | 0,12 |
| 21 | Biciclogermacreno | 30,21 | 1,53 |
| 22 | σ-Cadineno | 30,67 | 0,97 |

De los 22 componentes hallados en el AE de *Schinus molle* L. (Molle), mostrados en la tabla 5; 11 son monoterpenos, 10 sesquiterpenos y un monoterpeno oxigenado (grupo funcional éster), las cuales están agrupados en las tablas 6, 7 y 8).

Tabla 6. Monoterpenos presentes en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) determinados por GC/MS

| Número | Compuestos monoterpenos |
|--------|-------------------------|
| 1 | β -Mirceno |
| 2 | α -Pinenos |
| 3 | β -Pinenos |
| 4 | o-Cimeno |
| 5 | α -Felandreno |
| 6 | β -Felandreno |
| 8 | D-Limoneno |
| 8 | α -Tujeno |
| 9 | Canfeno |
| 10 | Sabineno |
| 11 | 4-Careno |

Tabla 7. Sesquiterpenos presentes en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) determinados por GC/MS

| Número | Compuestos sesquiterpenos |
|--------|--|
| 1 | β -Elemeno |
| 2 | Germacreno D |
| 3 | β -cariofileno |
| 4 | α -Cariofileno |
| 5 | α -Gurjuneno |
| 6 | σ -Cadineno |
| 7 | Biciclogermacreno |
| 8 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) |
| 9 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) |
| 10 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) |

En la tabla 7 los tres últimos compuestos sesquiterpenos no se identificaron con el GC/MS.

Tabla 8. Monoterpeno oxigenado (grupo funcional éster) presente en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) determinados por CG/SM

| Número | Monoterpeno oxigenado (grupo funcional éster) |
|--------|---|
| 1 | Octanoato de metilo |

4.3. Actividad antimicótica del AE de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

Los valores obtenidos de los halos de inhibición medidos en milímetros (mm), se registran en la tabla 9 y los promedios en la tabla 10.

Tabla 9. Valores de los halos de inhibición dado por el AE de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231

| Prueba de actividad antimicótica frente a <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|--|--|----------------|----------------|--|----------------|----------------|--|----------------|----------------|---|----------------|----------------|--------------------|----------------|----------------|----------------------------------|----------------|----------------|
| Grupos de prueba | | | | | | | | | | | | | Grupos controles | | | | | |
| Tiempo de incubación | Grupo 1 | | | Grupo 2 | | | Grupo 3 | | | Grupo 4 | | | Positivo | | | Negativo | | |
| | AE <i>Schinus molle</i> L. 40% (30 µL) | | | AE <i>Schinus molle</i> L. 60% (30 µL) | | | AE <i>Schinus molle</i> L. 80% (30 µL) | | | AE <i>Schinus molle</i> L. 100% (30 µL) | | | Fluconazol (25 µg) | | | DMSO (dimetil-sulfóxido) (30 µL) | | |
| | Halos de inhibición (mm) | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | D _A | D _B | D _C | D _A | D _B | D _C | D _A | D _B | D _C | D _A | D _B | D _C | D _A | D _B | D _C | D _A | D _B | D _C |
| 24H | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 11 | 10 | 8 | 13 | 12 | 12 | 27 | 26 | 26 | 6 | 6 | 6 |
| 48H | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 11 | 10 | 8 | 13 | 12 | 12 | 27 | 26 | 26 | 6 | 6 | 6 |
| 72H | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 6 | 11 | 10 | 8 | 13 | 12 | 12 | 27 | 26 | 26 | 6 | 6 | 6 |

Legenda. Disco 1 (D_A), disco 2 (D_B) y disco 3 (D_C)

Teniendo en cuenta que el tamaño del disco del papel Whatman es de 6 mm de diámetro, cuando se reporta esta medida indicará que no hay formación de halos de inhibición.

En la tabla 9 se reportan los siguientes análisis:

- En el grupo 1 y 2, no hubo formación de halos de inhibición en ninguno de los discos.
- En el grupo 3, si hubo formación de halos de inhibición en el disco 1 (D_A) de 11 mm, en el disco 2 (D_B) 10 mm y en el disco 3 (D_C) 8 mm de diámetro.
- En el grupo 4, si hubo formación de los halos de inhibición en el disco 1 (D_A) de 13 mm, disco 2 (D_B) 12 mm y disco 3 (D_C) 12 mm de diámetro.
- En el Grupo control positivo (Fluconazol) los halos de inhibición midieron en el disco 1 (D_A) 27 mm, disco 2 (D_B) 26 mm y disco 3 (D_C) 26 mm.
- Grupo control negativo (dimetilsulfóxido) no se generó halos de inhibición en los tres discos (D_A, D_B, D_C) durante los tiempos expuestos.
- En los grupos de prueba y grupos controles no hubo incremento del tamaño de los halos de inhibición durante los periodos expuestos.

Tabla 10. Valores promedios de los halos de inhibición

| Promedio de los halos de inhibición | | | | | | |
|-------------------------------------|---|---|---|--|-----------------------|---------------------------------------|
| Grupos de prueba | | | | | Grupos controles | |
| Tiempo de incubación | Grupo 1 | Grupo 2 | Grupo 3 | Grupo 4 | Positivo | Negativo |
| | AE <i>Schinus molle</i> L. 40% (30 µL) | AE <i>Schinus molle</i> L. 60% (30 µL) | AE <i>Schinus molle</i> L. 80% (30 µL) | AE <i>Schinus molle</i> L. 100% (30 µL) | Fluconazol (25 µg) | DMSO (dimetilsulfóxido) (30 µL) |
| Halos de inhibición (mm) | | | | | | |
| 24H | 6 | 6 | 9,7 | 12,3 | 26,3 | 6 |
| 48H | 6 | 6 | 9,7 | 12,3 | 26,3 | 6 |
| 72H | 6 | 6 | 9,7 | 12,3 | 26,3 | 6 |
| promedio | 6 | 6 | 9,7 | 12,3 | 26,3 | 6 |

En la tabla 10, se determinó el promedio de la formación de los halos de inhibición dado por el AE de *Schinus molle* L. (Molle) a concentraciones de 40, 60, 80 y 100%, Fluconazol 25 µg y Dimetilsulfóxido frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

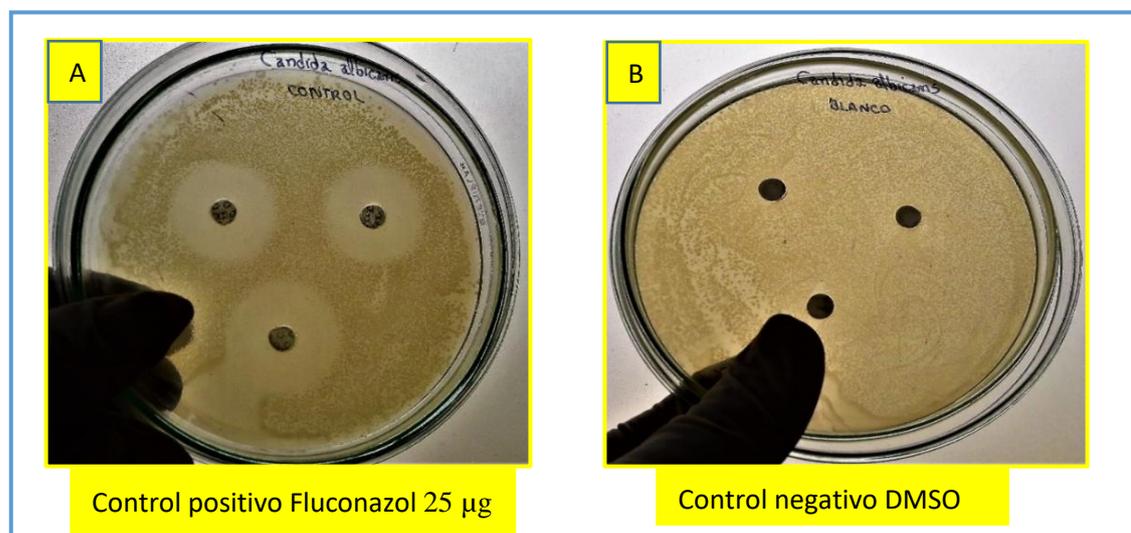


Figura 9. Halos de inhibición formados por Fluconazol 25 µg y Dimetilsulfóxido (MDSO)

En el control positivo (placa A) mostrado en la figura 9, se obtuvo halos de inhibición con un promedio de 26,3 mm de diámetro dado por el Fluconazol 25 µg, mientras que, en el control negativo (placa B) no se obtuvo formación de halos dado por el Dimetilsulfóxido (DMSO) frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

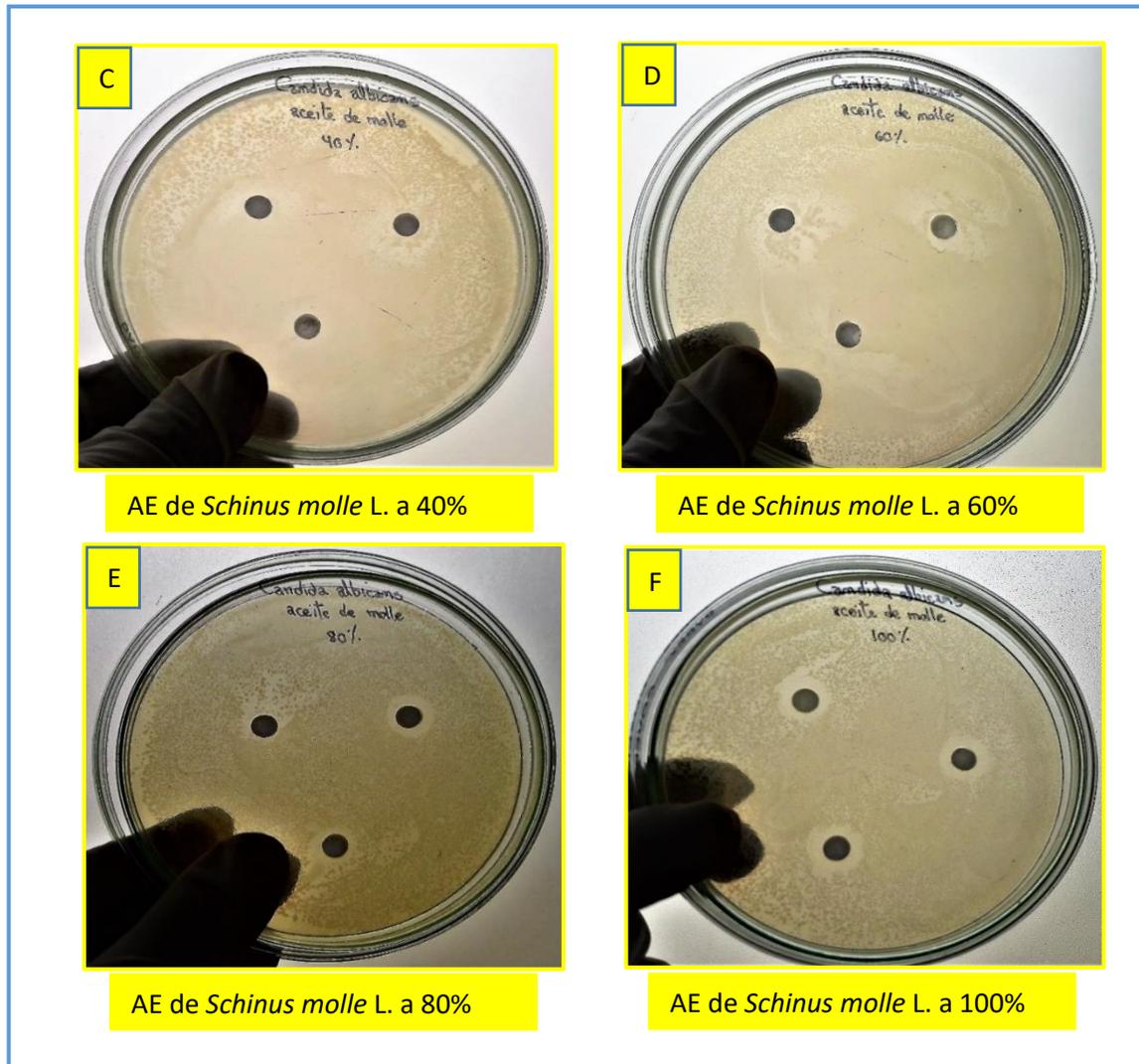


Figura 10. Halos de inhibición formados por el AE de *Schinus molle* L. a 40, 60, 80 y 100%

En las placas C y D mostrados en la figura 10, no se observaron formación de halos de inhibición dado por el AE de *Schinus molle* L. a 40 y 60%, sin embargo, en las placas E y F se obtuvo formación de halos de inhibición con un promedio de 9,7 mm y 12,3 mm de diámetro dado por el AE de *Schinus molle* L. a 80 y 100% frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

4.3.1. Grado de sensibilidad según Duraffourd a las 24, 48 y 72 horas de exposición

Se determinó el grado de sensibilidad según las pautas de Duraffourd expresado en la tabla 11.

Tabla 11. Categorización de los halos de inhibición según el Aromatograma de sensibilidad de Duraffourd

| Sustancias de pruebas | Tiempo de exposición | Sensibilidad nula ≤ 8 mm | Sensible entre 9-14 mm | Muy sensible 15-19 mm | Sumamente sensible ≥ 20 mm |
|---------------------------------|----------------------|-------------------------------|------------------------|-----------------------|---------------------------------|
| AE <i>Schinus molle</i> L. 40% | 24, 48 y 72 horas | 6 | - | - | - |
| AE <i>Schinus molle</i> L. 60% | | 6 | - | - | - |
| AE <i>Schinus molle</i> L. 80% | | - | 9,7 | - | - |
| AE <i>Schinus molle</i> L. 100% | | - | 12,3 | - | - |
| Fluconazol 25 μ g | | - | - | - | 26,3 |
| DMSO (dimetilsulfóxido) | | 6 | - | - | - |

En la Tabla 11, se presenta la sensibilidad que tuvo las cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 frente a la exposición del AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a concentraciones de 40, 60, 80 y 100% y se categorizó según las pautas de Duraffourd

- La cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 presentó sensibilidad nula frente al AE de *Schinus molle* L. (Molle) a 40 y 60% en los tres tiempos de exposición.
- Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 presentó sensibilidad frente al AE de *Schinus molle* L. (Molle) a 80 y 100% en los tres periodos de exposición.
- La cepa de *Candida albicans* ATCC 10231 fue sumamente sensible frente al Fluconazol en los tres tiempos de exposición.
- Las cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 presentó sensibilidad nula frente al Dimetilsulfóxido en los tres periodos de exposición.

V. DISCUSIÓN

El rendimiento del AE extraído del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) procedente del distrito de Pacaycasa (Ayacucho) por destilación por arrastre de vapor con agua fue de 5,2%, este resultado se aproxima a lo reportado por Llanos S. (2012)²³, quien obtuvo el AE del fruto de *Schinus molle* de dos localidades de la Región Tacna (Centro Poblado Menor de los Palos y la provincia de Tarata) en el que refiere rendimientos de 6,575% y 7,705%, a diferencia de los valores mostrados por Moncada M. (2013)²¹ quien obtuvo el AE del fruto de *Schinus molle* L. proveniente de Arequipa y Moquegua, registró para ambos AEs un rendimiento de 2,04%, del mismo modo Rojas S. (2017)¹⁹ trabajó con el AE extraído del fruto de *Schinus molle* del distrito de Lurigancho-Chosica (Lima) en el que reportó un rendimiento de 2,108%. Sin embargo, Ramírez R y Soto R. (2018)¹⁸ utilizaron el AE extraído de las hojas de *Schinus molle* L. recolectadas en el pueblo de San Antonio de Chaclla-Chosica (Lima) registrando un rendimiento de 0,22%, al igual que Rivadeneira D. (2015)¹⁶ extrajo el AE de las hojas de *Schinus molle* L. de la provincia de Quito (Ecuador) mencionando un rendimiento de 1,48%. La diferencia en los valores de los rendimientos obtenidos podría deberse a las condiciones experimentales de trabajo, la cantidad de muestra utilizada, las diferentes drogas empleadas (frutos y hojas) y finalmente a los factores edáficos (composición del suelo, cantidad de radiación solar y cantidad de lluvias, etc).

El AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) obtenido en el presente trabajo de investigación se obtuvo de color amarillo claro, olor herbáceo mentolado y penetrante, sabor astringente y ligeramente amargo, estos datos coinciden con lo reportado por Llanos S. (2012)²³ en su investigación, “Extracción y caracterización del aceite esencial de Molle (*Schinus molle* L.)” y por Moncada M. (2013)²¹ en su investigación, “Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Schinus molle* L. (molle) de Arequipa y Moquegua contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*”, mientras que Rojas S. (2017)¹⁹ en su investigación, “Screening fitoquímico y efecto antimicrobiano del *Schinus molle* “molle” describió al AE de color amarillo, olor penetrante y sabor amargo y picante, lo que concuerda con los datos registrados por Ramírez R y Soto R. (2018)¹⁸ en su investigación, “Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de molle (*Schinus molle* L.) frente a cepas de *Escherichia coli* in vitro”. El color del AE puede variar por el tiempo y la técnica de extracción empleada, probablemente debido a factores relacionados a la transmisión del calor a la que está expuesto el AE, en cuanto al olor es muy aromático y esto se debe a la presencia de monoterpenoides que son compuestos volátiles y el sabor se debe al contenido de ésteres¹⁸.

La densidad del AE de *Schinus molle* L. (Molle) procedente del distrito de Pacaycasa (Ayacucho) determinado por el método del picnómetro fue de 0,833 g/mL este resultado coincide con la investigación reportada por Llanos S. (2012)²³ ya que utilizando el mismo método obtuvo una densidad para la muestra del AE del Centro Poblado Menor de los Palos de 0,846 g/cm³ y para el AE de la provincia de Tarata fue 0,831 g/cm³, asimismo Moncada F. (2013)²¹, empleando el mismo método registró una densidad de 0,850 g/mL para el AE de Arequipa y 0,831 g/mL para el AE de Moquegua, de modo similar Rojas S. (2017)¹⁹ también utilizó el mismo método para el AE obtenido de Lurigancho-Chosica (Lima) reportando una densidad de 0,862 g/mL, mientras que Ramírez R y Soto R. (2018)¹⁸ utilizando el método de la probeta para el AE de las hojas recolectadas en el pueblo San Antonio de Chaclla-Chosica (Lima) obtuvo una densidad de 0,9165 g/mL. Los valores hallados son bajos con respecto a otros aceites esenciales, debido a su alto contenido de hidrocarburos terpénicos y a la presencia de componentes volátiles²¹.

El pH del AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) proveniente del distrito de Pacaycasa (Ayacucho) se obtuvo en un valor de 5 determinado por tiras indicadoras de pH, mientras que Rojas S. (2017)¹⁹ obtuvo un pH de 3,79 del AE del fruto de *Schinus molle* L. del distrito de Lurigancho (Lima) con un potenciómetro. Estas diferencias en los valores de pH pueden deberse a los diferentes métodos utilizados o al origen diferente de la muestra.

Mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masa (GC/MS), se identificó 22 constituyentes presentes en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) del distrito de Pacaycasa (Ayacucho), de los cuales 5 compuestos representan los componentes químicos mayoritarios, siendo α -Felandreno, β -Mirceno, D-Limoneno, β -Felandreno, O-Cimeno, asimismo, empleando la misma técnica Moncada F. (2013)²¹ encontró diferentes compuestos químicos en el AE de *Schinus molle* L. (Molle) de los departamentos de Arequipa y Moquegua tales como α -pineno, β -Pineno, β -Mirceno, α -Felandreno y Silvestreno, resultados que difieren en 3 compuestos; sin embargo Llanos S. (2012)²³ mediante cromatografía de gases con detector de ionización de llama (GC-FID) observó 5 metabolitos volátiles mayoritarios presentes en el AE extraído de las hojas de molle (*Schinus molle* L.) procedente de la región Tacna siendo monoterpenos como: limoneno, α -pineno, β -pineno, β -mirceno y α -felandreno, estos compuestos coinciden con los reportados por Ramírez R y Soto R. (2018)¹⁸ en su investigación.

Utilizando el método de Kirby-Bauer por difusión en disco, se determinó la actividad antimicótica del AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) procedente del distrito de Pacaycasa (Ayacucho), empleando concentraciones de 40, 60, 80 y 100% con sus respectivos grupos controles, positivo (discos de fluconazol 25 µg) y negativo (dimetilsulfóxido), la medición de los diámetros de los halos de inhibición se realizó en tres tiempos de incubación a 24, 48 y 72 horas, Ramírez R y Soto R. (2018)¹⁸ emplearon en su investigación para evaluar el efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de molle (*Shinus molle* L.) procedentes del pueblo San Antonio de Chaclla (Chosica), asimismo Rivadeneira D. (2015)¹⁶ utilizaron el mismo método para evaluar *in vitro* el potencial biocida del AE extraído de las hojas de la Provincia de Pichari (Quito) con una diferencia en los periodos de incubación de 24 y 72 horas. Sin embargo las concentraciones usadas y los grupos controles pueden variar de un investigador a otro²¹.

El tiempo de exposición (24, 48 y 72 horas) del AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) del distrito de Pacaycasa (Ayacucho) a diferentes concentraciones (40, 60, 80 y 100%) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, no presentó aumento en el tamaño de los halos de inhibición, por lo contrario a Ramírez R y Soto R. (2018)¹⁸ quienes trabajaron con cepas de *Escherichia coli* y Rivadeneira D. (2015)¹⁶ trabajó con *Streptococcus mutans* afirman que a medida que pasa el tiempo se genera un incremento del tamaño de los halos de inhibición por cada periodo de tiempo transcurrido. Esta discrepancia puede deberse a que la pared celular del hongo es más resistente que la de las bacterias.

Los halos de inhibición producido por el AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) observados en el presente trabajo a concentraciones de 40 y 60% fueron de 6 mm, a 80% de 9,7 mm y a 100% de 12,3 mm de diámetro frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231, la que difiere de los resultados reportados por Saravia N y Guillinta G. (2012)²⁴ quienes utilizaron el extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* recolectadas en la provincia de Junín (Huancavelica) a concentraciones de 25 µg/mL registrando halos de inhibición ≥ 20 mm frente a cepas clínicas de *Candida albicans* obtenidas de las prótesis dentales de los pacientes. La diferencia del tamaño de los halos de inhibición puede deberse por las distintas drogas utilizadas.

Según el aromatógrama de Duraffourd, el AE del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) del distrito de Pacaycasa (Ayacucho) a concentraciones de 40 y 60% presentaron un grado de sensibilidad menor a 8 mm (sensibilidad nula) mientras que a 80 y 100% evidenciaron un grado de sensibilidad de 9 a 14 mm (sensible), sin embargo con el control positivo discos de Fluconazol 25 µg se obtuvo grado de sensibilidad mayor de 20 mm (sumamente sensible) y el control negativo Dimetilsulfóxido (MDSO) presentó grado de sensibilidad menor a 8 mm (sensibilidad nula) frente a cepas de *Candida albicans* ATCC 10231.

VI. CONCLUSIONES

Se identificó por cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas (CG/MS) 5 componentes mayoritarios presentes en el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle), los cuales fueron: α -Felandreno, β -Mirceno, D-Limoneno, β -Felandreno, O-Cimeno.

Se determinó que el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 40% no presentó actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Se determinó que el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 60% no presentó actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231.

Se determinó que el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 80% presentó actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, evidenciando con halos de inhibición de 9,7 mm de diámetro.

Se determinó que el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) a 100% presentó actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de *Candida albicans* ATCC 10231, mostrando halos de inhibición de 12,3 mm de diámetro.

Se determinó que el aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) presentó mayor actividad antimicótica “in vitro” a la concentración de 100%.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda conservar el aceite esencial extraído del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) en frascos de color ámbar, tapar de inmediato para evitar que se deteriore por la radiación UV o por el oxígeno del aire y almacenar refrigerado a T° de 2-8°C.
2. Evaluar la actividad antimicótica *in vitro* del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) frente a cepas clínicas de *Candida albicans*.
3. Realizar pruebas de toxicidad del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle).
4. Aislar los compuestos mayoritarios del aceite esencial del fruto maduro de *Schinus molle* L. (Molle) para la elaboración de fitomedicamentos.
5. Utilizar el recurso vegetal *Schinus molle* L. (Molle) en forma responsable evitando la tala indiscriminada.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moreno C. Epidemiología de las enfermedades fúngicas invasoras. Acta Científica de la Sociedad Venezolana de Bioanalistas Especialistas [Internet]. 2014 Enero. [citado el 19 de junio 2018]; 17(2):75-80. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/305852770_EPIDEMIOLOGIA_DE_LAS_ENFERMEDADES_FUNGICAS_INVASORAS
2. De la Calle N, Santa C, Córdova N. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados para *Candida albicans* y hongos dermatofitos. Rev Ces Med [Internet]. 2012 Enero-Julio [citado el 19 de junio 2018]; 26(1):43-55. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/cesm/v26n1/v26n1a05.pdf>
3. Cruz S, Díaz P, Mazón G, Arias D, Calderón M, Herrera A. Genoma de *Candida albicans* y resistencia a las drogas. Salud Uninorte. Barranquilla (Col.) [Internet]. 2017 [citado el 20 de junio 2018]; 33(3):438-450. Disponible en:
4. De Bedout C, Gómez L. *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. Infectio [Internet]. 2010 [citado el 20 de junio 2018]; 14(S2): S159-S171. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/inf/v14s2/v14s2a08.pdf>
5. Informe clínico Digemid-Minsa. Ministerio de salud [Internet]. 2014 [citado el 21 de junio 2018]. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/ESEMOTS/11_Evaluacion/01_Informes_PNUME_2015/INFORME_FLUCONAZOL.pdf
6. Moreno M, Moreno O. Características clínicas y epidemiológicas de la candidemia en pacientes de un hospital de tercer nivel del sur del Perú, 2011-2014. Acta Med Perú. [Internet]. 2017 [citado el 21 de junio 2018]; 34(4): 289-93. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/966/96654350006.pdf>
7. Boletín terapéutico: Vulvovaginitis por *Candida*: tratamiento. Bol Ter Andial [Internet]. 2003 [citado el 22 de junio 2018]; 19(5):17-20. Disponible en: http://www.cadime.es/docs/bta/CADIME_BTA2003_19_5.pdf
8. Carretero M. Candidiasis vulvovaginal tratamiento tópico y oral. Offarm [Internet]. 2009 [citado el 22 de junio 2018]; 28(1): 68-69. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-candidiasis-vulvovaginal-13132028>
9. Sánchez J, Gonzales L, Rojas K, Muños G. Prevalencia de *Candida albicans* y su relación con cambios en el pH. Atem Fam [Internet]. 2017 [citado el 23 de junio 2018]; 24(1): 18-22. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1405887117300056>

10. Pérez O, Vásquez Y. Vaginitis y vaginosis bacteriana en mujeres de edad fértil y gestantes en un centro de Salud de la provincia de Chiclayo. Rev Salud & Vida Sipanense [Internet]. 2016 [citado el 24 de junio 2018]; 3(2): 37-42. Disponible en: <http://revistas.uss.edu.pe/index.php/SVS/article/viewFile/427/414>

11. Miró S, Rodríguez E, Vigezzi C, Icely A, Gonzaga de Freitas M, Riera O, viera C, Lara V, Abiega C, Caeiro P, Sotomayor E. Candidiasis vulvovaginal: una antigua enfermedad con nuevos desafíos. Rev Iberoam Micol. [Internet]. 2016 [citado el 23 de junio 2018]; xxx (xx):xxx-xxx. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1130140617300281>

12. *Schinus molle*. Species plantarum [Internet]. 1753 [citado el 25 de junio 2018]; 1(1): 24-27. Disponible en: http://www.biodiversidad.gob.mx/especies/reforestacion/pdf/3_anaca4m.pdf

13. Stadler N. Características y bondades del árbol de Molle (*Schinus molle*). [Internet]. 2010 [citado el 25 de junio 2018]; 0(0): 1-3. Disponible en: http://www.ecosaf.org/mollesnejta/Bondades%20del%20Molle_2010.pdf

14. Briceño H. Candidiasis vulvovaginal recurrente: Nuevos protocolos terapéuticos. AMATGI [Internet]. 2012 [citado el 27 de junio 2018]; 3(6): 12-15. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/archivostgi/tgi-2012/tgi126i.pdf>

15. Arias J, Silva G, Figueroa I, Fischer S, Robles A, Rodríguez C, Lagunes A. Actividad insecticida, repelente y antialimentaria del polvo y aceite esencial de fruto de *Schinus molle* L. para el control de *Sitophilus zeamais* (Motschulsky). Chilean J. Agric.Anim.Sci,Agro-Ciencia [Internet]. 2017 [citado el 28 de junio 2018]; 33(2): 93-104. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/chjaasc/v33n2/0719-3890-chjaasc-00301.pdf>

16. Rivadeneira D. “Potencial biocida 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 [Tesis Pregrado]. Quito (Ecuador): Universidad Central del Ecuador; 2015.89p.

17. Guala S, Lapissonde O, Elder V, Pérez A. Efecto acaricida del aceite esencial de Aguaribay (*Schinus molle* L.) y sus fracciones en colmenas de Abejas (*Apis mellifera*) en relación con la composición química. Información tecnológica [Internet]. 2014 [citado el 27 de junio 2018]; 25(2): 151-156. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v25n2/art17.pdf>

18. Ramírez R, Soto R. “Efecto antibacteriano del aceite esencial de las hojas de molle (*Schinus molle* L.) frente a cepas de *Escherichia coli*” in vitro [Tesis Pregrado]. Lima (Perú): Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2018. 134p.

19. Rojas S. Screening fitoquímico y efecto antimicrobiana del *Schinus molle* “molle”. Medicina Humana y Ciencias de la Salud [internet]. 2017[citado el 27 de junio 2018]; 4(1): 23-27. Disponible en: <http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/SD/article/view/1581/1559>

20. Vásquez J, Díaz D. Efecto antimicótico in vitro del aceite esencial de Molle (*Schinus molle* Lenneo) sobre *Trichophyton mentagrophytes*. *Medica Veterinaria* [Internet]. 2014 [citado el 26 de junio 2018]; 1(1). Disponible en:
<http://revistas.uap.edu.pe/ojs/index.php/EV/article/view/147/102>

21. Moncada M. Determinación de la composición y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Schinus molle* L. (molle) de Arequipa y Moquegua contra *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus* [Tesis Pregrado]. Arequipa (Perú): Universidad Católica de Santa María; 2013. 140p.

22. Cedamanos I. Efecto inhibidor in vitro del aceite esencial de *Schinus molle* “molle” sobre *Streptococcus mutans* ATCC 25175). [Tesis Doctoral]. Trujillo (Perú): Universidad Nacional de Trujillo; 2013. 70p.

23. Llanos S. Extracción y caracterización del aceite esencial de Molle (*Schinus Molle*). [Tesis de Pregrado]. Tacna (Perú): Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann; 2012.228p.

24. Saravia N, Guillinta G. Actividad antifúngica del extracto etanol *Schinus molle* y el fluconazol obre *Candida albicans*. *Kiru* [Internet]. 2012 [citado el 26 de junio 2018]; 9(1): 39-41. Disponible en:
<https://www.aulavirtualusmp.pe/ojs/index.php/Rev-Kiru0/article/view/200/174>

25. Molle (*Schinus molle*). La pimienta del Perú. Perú ecológico [Internet].2018 [citado el 1 de julio 2018]. Disponible en:http://www.peruecologico.com.pe/flo_molle_1.htm

26. Ramírez J, Avendaño G, Badano E. El pirul, árbol que vino del sur. CONABIO. Biodiversitas [Internet]. 2015 [citado el 2 de julio 2018]; 0(117): 6-11. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/284032044_El_Pirul_el_arbol_que_vino_del_sur

27. Salazar R, Soihet C. Manejo de semillas de 75 especies forestales de América Latina. Centro Agrónomo Tropical de Investigación y Enseñanza-CATIE [Internet]. 2001 [citado el 2 de julio 2018]; 48(11): 155p. Disponible en:
<https://books.google.com.pe/books?id=gUYxSnfIE5AC&pg=PA93&dq=schinus+molle&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjKxtSo8KjcAhUrmeAKHav2BZoQ6AEIMzAD#v=onepage&q=schinus%20molle&f=true>

28. Montoya G. Aceites esenciales: Una alternativa de diversificación para el eje cafetero. Universidad Nacional de Colombia sede Manizales. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales [Internet]. 2010 junio [citado el 30 de junio 2018]; 1(0):24-32. Disponible en:
<http://bdigital.unal.edu.co/50956/7/9588280264.pdf>

29. Carrere R. Anacahuita (*Schinus molle*): la indígena más popular. Colección del grupo Guayubira sobre especies indígenas N°15. [Internet]. 2009 junio [citado el 3 de julio 2018]; 1-26p. Disponible en: <http://www.guayubira.org.uy/monte/Anacahuita.pdf>

30. *Schinus molle*. Sistema nacional de información florestal. Species plantarum [Internet]. 1753 [citado el 4 de julio 2018]; 1-9p. Disponible en: <http://www.cnf.gob.mx:8090/snif/portal/libraries/phpsnif/usuarios/UsosPDF.php?especieURL=SchinusMolle>
31. Dellacassa E. Normalización de productos naturales obtenidos de la flora aromática latinoamericana. Proyecto CYTED IV.20 [Internet]. 2010 [citado el 3 de julio 2018]; 334p. Disponible en: <http://ebooks.pucrs.br/edipucrs/normalizacion.pdf>
32. López T. Los aceites esenciales: Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias. Offarm [Internet]. 2004 julio-agosto [citado el 28 de junio 2018]; 23(7): 88-91. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-los-aceites-esenciales-13064296>
33. Stashenko E. Aceite esenciales. 1ª ed. Colombia: División de Publicaciones; 2009.
34. Saz P, Ortiz M. Aromaterapia. Salud integral [Internet]. 2007 mayo [citado el 29 de junio 2018]; 21(5): 64-68. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-farmacologia-profesional-3-articulo-aromaterapia-13106262>
35. Romero R. Microbiología y parasitología humana: bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª ed. México: Médica Panamericana; 2007.
36. Laforet L. Estudio de PGA26, una proteína implicada en la arquitectura de la pared celular de *Candida albicans*. [Tesis doctoral]. Valencia (España): Universidad de Valencia; 2010. 200p.
37. Soihet S. Candidiasis vaginal diagnóstico y tratamiento en la práctica ginecológica. Revista peruana de ginecología y obstetricia [Internet]. 1989 [citado el 5 de julio 2018]; 35(7): 42-44p. Disponible en: <http://www.spog.org.pe/web/revista/index.php/RPGO/article/view/1235/1190>
38. Trejo A, Pérez B, Hernández L, Carrasco D, Ducoing D. Guía clínica para el diagnóstico, tratamiento y prevención de cervicovaginitis por bacterias, *Trichomonas* y *Candida*. Revista médica del IMSS [Internet]. 2003 [citado el 7 de julio 2018]; 41(supl.1): S71-S76p. Disponible en: <http://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2003/ims031g.pdf>
39. Gómez C, Resistencia del genero *Candida* al fluconazol. Infectio [Internet]. 2010 diciembre [citado el 7 de julio 2018]; 4(supl.2): S172-S180p. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S012393921070134X>
40. Prats G. Microbiología clínica. 1ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2005.
41. Negroni M. Microbiología estomatológica: fundamentos y guía práctica. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana; 2009.
42. Brito A. Efecto inhibitorio de la azitromicina sobre *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 [Tesis Pregrado]. Quito (Ecuador): Universidad Central del Ecuador; 2018. 90p.

43. Peredo A, Palou E, López A. Aceites esenciales: método de extracción. Temas selectos de Ingeniería de alimentos [Internet]. 2009 [citado el 30 de junio 2018]; 3(1):24-32. Disponible en: [https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Peredo-Luna-et-al-2009.pdf)
44. Hill W, Kolb K. Química para el nuevo milenio, 8va ed. México: Prentice Hall; 1999.
45. Osorio GR. Manual de técnicas de laboratorio químico, 1ra ed. Colombia: Universidad de Antioquía; 2009.
46. Guarnizo A, Martínez P. Experimento de química orgánica: con enfoques en ciencias de la vida. 1ra ed. Colombia: Elizcom; 2013.
47. Famacopea Argentina. Anmat [Internet]. [citado el 4 de octubre 2018]; 3(1):1-918. Disponible en: http://www.anmat.gov.ar/webanmat/fna/pfds/Libro_Segundo.pdf
48. Gutiérrez M, Droguet M. la cromatografía de gases y la espectrometría de masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor. Boletín Intexter [Internet]. [citado el 1 de febrero 2019]; 1-7p. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/41780740.pdf>
49. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Método de estudio de la sensibilidad antibiótica. Temas de Bacteriología y Virología Médica [Internet]. [citado el 1 de febrero 2019]; 663-671p. Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
50. Cartón E, Martín E, Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documento M27-A3, M38-A y M44-A). Asociación Española de Micología [Internet]. 2007 [citado el 16 de septiembre 2018]; 15(5): 1-24p. Disponible en: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
51. Inserto patrón McFarland. MDM científica. [Internet]. [citado el 4 de octubre 2018]; 1pág. Disponible en: <http://mdmcientifica.com/wp-content/uploads/2017/07/Patr%C3%B3n-McFarland-05072017-O-P.PD-311-INSERTO-05072017-MDM-cient%C3%ADfica.pdf>

IX. ANEXO

Anexo 1. Matriz de consistencia

| TÍTULO | PROBLEMA | OBJETIVOS | HIPÓTESIS |
|--|--|--|---|
| Actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. | GENERAL: ¿Presentará actividad antimicótica “in vitro” el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231? | GENERAL: Evaluar la actividad antimicótica “in vitro” del aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. | GENERAL: El aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. |
| | ESPECÍFICOS: ¿Qué componentes principales tendrá el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> (Molle) ATCC 10231? | ESPECÍFICOS: Identificar los componentes principales del aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle). | ESPECÍFICOS: Los componentes del aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presentan actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. |
| | ¿Presentará el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 40% actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231? | Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 40% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. | El aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 40% no presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. |
| | ¿Presentará el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 60% actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231? | Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 60% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. | El aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 60% no presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. |
| | ¿Presentará el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 80% actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231? | Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 80% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. | El aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 80% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. |
| | ¿Presentará el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 100% actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231? | Determinar si el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 100% presenta actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. | El aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) a 100% presenta mayor actividad antimicótica “in vitro” frente a cepa de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231. |
| | ¿A qué concentración el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presentará mayor actividad antimicótica “in vitro”? | Determinar a qué concentración el aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presenta mayor actividad antimicótica “in vitro”. | El aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) presenta mayor actividad antimicótica “in vitro” a mayor concentración. |

Anexo 2. Operacionalización de variables

| VARIABLES | | DEFINICION CONCEPTUAL | DIMENSIONES | INDICADORES | INSTRUMENTOS | Nº ITEMS | ESCALA | FUENTE |
|---------------|--|--|------------------------|---|--|---|------------------------------------|---|
| INDEPENDIENTE | Aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | Son fracciones líquidas volátiles, están constituidas por mezclas complejas de compuestos volátiles, presentan propiedades farmacológicas: bactericida, virucida, antiséptico y fungicida. | Compuestos orgánicos | Concentración del aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) | Método de destilación por arrastre de vapor. | Concentración 40% | Concentración /porcentual (%p/p) | Aceite esencial del fruto maduro de <i>Schinus molle</i> L. (Molle) |
| | | | | | | Concentración 60% | | |
| | | | | | | Concentración 80% | | |
| | | | | | | Concentración 100% | | |
| DEPENDIENTE | Actividad antimicótica "in vitro" frente a cepas de <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 | Capacidad de evitar, inactivar e inhibir el crecimiento fúngico | Actividad antimicótica | Grado de sensibilidad según el Aromatograma de Duraffourd | Método Kirby-Bauer (difusión en disco) | Nula (-) Sensible (+) Muy sensible (++) Sumamente sensible (+++) | Medida de halos de inhibición (mm) | <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 |

Anexo 3. Certificado botánico de la especie *Schinus molle* L. (Molle).

JOSÉ R. CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C.B.P. N° 3796
Tel: 17512863 RPM 963689079
E-mail: iocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 – INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

Certifica:

Que, **ZAMBRANO OSPINAL, Agar Leonor**, Bachiller en Farmacia y Bioquímica, egresada de la Facultad Farmacia y Bioquímica de la Universidad Privada Norbert Wiener, ha solicitado la identificación y certificación botánica de una planta proveniente del distrito de Pacaycasa, provincia de Huamanga, departamento de Ayacucho, donde es conocida con el nombre vulgar de “molle”, la muestra con flores y frutos ha sido estudiada y determinada como *Schinus molle* L., y según el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist. (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

REINO : Plantae
DIVISIÓN : Magnoliophyta
CLASE : Magnoliopsida
SUBCLASE : Rosidae
ORDEN : Sapindales
FAMILIA : Anacardiceae
GENERO : *Schinus*
ESPECIE : *Schinus molle* L.

Nombre vulgar: “**molle**”

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

Lima, 01 de setiembre del 2018



José R. Campos De La Cruz
José R. Campos De La Cruz
BIOLOGO
C.B.P. 3796

Jr. Sánchez Silva # 156-2do piso – Urb. Santa Luzmila - Lima 07 / e-mail: joricampos@yahoo.es

ROVILL INGENIEROS PROYECTOS – AGROINDUSTRIAL
Servicio y Tecnología DISEÑO Y CONSTRUCCION DE EQUIPOS
Celular: 975-398-221 De: **Pedro Romero y Otiniano**
Jr. Zepita N° 585. Cercado de Lima. Teléfono: 704-3504. Email: pedroromeroy@yahoo.es

Lima, 03 de Octubre del 2018

CONSTANCIA

Por la presente Yo, **Ing. PEDRO ROMERO Y OTINIANO** con **Reg. CIP N°: 105923**, Profesor de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la **Universidad Nacional Mayor de San Marcos**, dejo constancia de haber realizado el Proceso de Extracción de Aceite Esencial de **Molle (*Schinus molle* L.)** en el Laboratorio de Operaciones Unitarias de la Facultad a pedido y en colaboración con la Bachiller **ZAMBRANO OSPINAL, AGAR LEONOR**, que se encuentra elaborando un trabajo de Investigación con el aceite esencial de Molle; la interesada proporcionó la materia prima, que fue recolectada en el departamento de **Ayacucho**, provincia de Huamanga, distrito Pacaycasa; la que fue sometida a un proceso de Secado y molienda, principalmente para lograr liberar el aceite esencial de molle, sin romper la semilla y lograr así el máximo rendimiento en aceite esencial de molle.

El equipo utilizado es un sistema diseñado y acondicionado para procesar Aceites Esenciales a Nivel Piloto mediante el método de Destilación por Arrastre con vapor, en condiciones y cantidades optimas, es decir cantidades mínimas apropiadas para poder cuantificar y evaluar cualquier especie vegetal con contenido de aceites esenciales.

Se procesó **4kg** de muestra de molle seco. Se proceso en el equipo de extracción, obteniéndose **250mL** de aceite (**6.3%**) en un tiempo de operación de **45** minutos.

Se remite el presente documento para los fines que la interesada crea conveniente.

Atentamente,



Ing. Pedro Romero y Otiniano
Código Docente: 0A1222
UNMSM-FQIQ



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN PRODUCTOS NATURALES

Informe de resultados

Solicitante: Agar Leonor Zambrano Ospinal, UPNW.
Muestra: 1 muestra de Aceite esencial de Molle.
Análisis: Composición química de 1 aceite esencial por Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.
Fecha de entrega de Resultados: 28 setiembre 2018

RESULTADOS

En las páginas 2 a 3 del presente informe.

Atentamente,

Dra. Rosario Rojas Durán

Unidad de Investigación en Productos Naturales
LID-Laboratorio 209
e-mail: rosario.rojas@upch.pe
Página web: www.uipn-upch.pe
Teléfono: 51-1-3190000 Anexo 233227

Página 1 de

Av. Honorio Delgado 430, Lima 31 / Apartado Postal 4314 Central Telefónica: (511) 319-0000 2402 Secretaria Académica de Facultad de Ciencias y Filosofía Alberto Cazorla Talleri

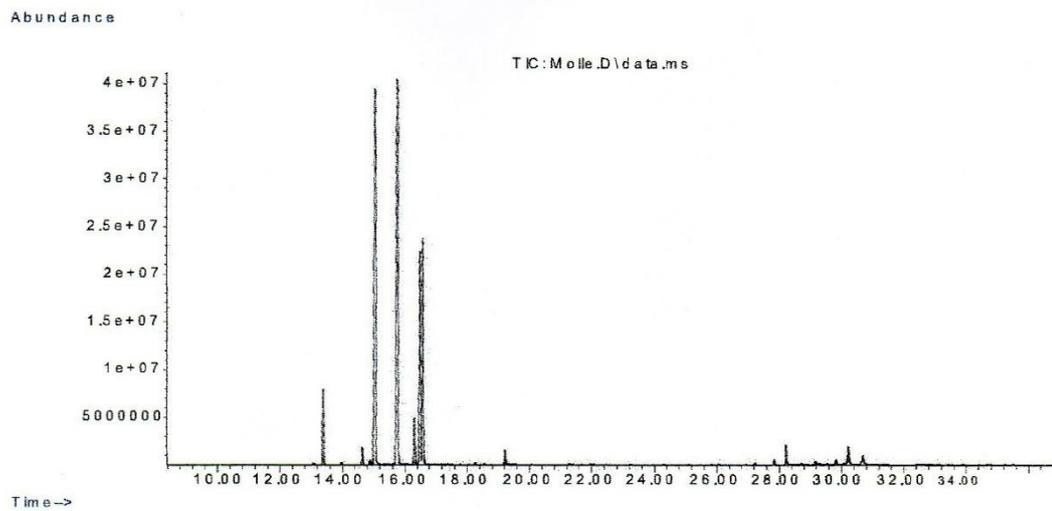
ACEITE ESENCIAL DE MOLLE

Se identificaron 22 compuestos que comprenden el 100% de la composición total del aceite esencial.

| Número | Nombre del compuesto (NIST08.L) | t _R (min) | % en la muestra (áreas relativas) |
|--------|--|-------------------------|--------------------------------------|
| 1 | α-Tujeno | 13.07 | 0.10 |
| 2 | α-Pineno | 13.38 | 3.66 |
| 3 | Camfeno | 13.97 | 0.14 |
| 4 | Sabineno | 14.63 | 0.85 |
| 5 | β-Pineno | 14.87 | 0.26 |
| 6 | β-Mirceno | 15.05 | 30.52 |
| 7 | α-Felandreno | 15.76 | 31.62 |
| 8 | o-Cimeno | 16.30 | 2.44 |
| 9 | D-Limoneno | 16.48 | 12.36 |
| 10 | β-Felandreno | 16.58 | 12.08 |
| 11 | 4-Careno | 18.24 | 0.13 |
| 12 | Octanoato de metilo | 19.21 | 0.88 |
| 13 | β-Elemeno | 27.21 | 0.11 |
| 14 | α-Gurjuneno | 27.83 | 0.31 |
| 15 | β-Cariofileno | 28.21 | 1.16 |
| 16 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) | 28.70 | 0.08 |
| 17 | α-Cariofileno | 29.16 | 0.24 |
| 18 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) | 29.29 | 0.11 |
| 19 | D-Germacreno | 29.82 | 0.33 |
| 20 | Desconocido (C ₁₅ H ₂₄) | 30.07 | 0.12 |
| 21 | Biciclogermacreno | 30.21 | 1.53 |
| 22 | δ-Cadineno | 30.67 | 0.97 |

Página 2 de 3

Cromatograma GC-MS del aceite esencial de Molle



Condiciones cromatográficas para el aceite esencial de Molle:

Equipo: Cromatógrafo de gases Agilent Technologies 7890 con detector espectrómetro de masas Agilent Technologies 5975C.

Columna: J&W 122-1545.67659 DB-5ms, 325 °C: 60 m x 250 µm x 0.25 µm

Rampa de temperatura: Empieza en 40 °C y sube a 5 °C/min hasta 180 °C; 2.5 °C/min hasta 200 °C por 5 min y finalmente 10 °C/min hasta 300 °C manteniéndose por 3 minutos.

Tiempo de corrida: 54 min

Volumen de Inyección: 1 µL

Split: 50:1

Gas portador: He, 1 mL/min

Muestra: Se diluyó 20 µL de muestra en 1 mL de diclorometano.

Anexo 6. Protocolo de análisis de la actividad antimicótica del AE de *Schinus molle* L. (Molle)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00436-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 005062/2018
SOLICITADO POR : AGAR LEONOR ZAMBRANO OSPINA
MUESTRA : ACEITE ESENCIAL DE MOLLE
NÚMERO DE LOTE : --
CANTIDAD : 01 frasco x 20mL
FECHA DE RECEPCIÓN : 13 de Setiembre del 2018
FECHA DE FABRICACIÓN : ----
FECHA DE VENCIMIENTO : ----

EFICACIA ANTIMICROBIANA:

| MICROORGANISMO | DIÁMETROS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS 24 H | | | | | | |
|-------------------------|--|--------|------|-----|-----|-----|--|
| | CONTROL | BLANCO | 100% | 80% | 60% | 40% | |
| <i>Candida albicans</i> | 27 | 6 | 13 | 11 | 6 | 6 | |
| | 26 | 6 | 12 | 10 | 6 | 6 | |
| | 26 | 6 | 12 | 8 | 6 | 6 | |
| | DIÁMETROS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS 48 H | | | | | | |
| | CONTROL | BLANCO | 100% | 80% | 60% | 40% | |
| | 27 | 6 | 13 | 11 | 6 | 6 | |
| | 26 | 6 | 12 | 10 | 6 | 6 | |
| | 26 | 6 | 12 | 8 | 6 | 6 | |
| | DIÁMETROS DE INHIBICIÓN EN MILÍMETROS 72 H | | | | | | |
| | CONTROL | BLANCO | 100% | 80% | 60% | 40% | |
| | 27 | 6 | 13 | 11 | 6 | 6 | |
| | 26 | 6 | 12 | 10 | 6 | 6 | |
| 26 | 6 | 12 | 8 | 6 | 6 | | |

Control: Fluconazol 25 µg
 Blanco: Dimetilsulfóxido
 Concentración del inóculo: 1x10⁸ UFC/mL

*El tamaño de los discos es de 6mm por lo tanto cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halos de inhibición

Lima, 27 de Setiembre del 2018



QF. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe



ISO 9001
BUREAU VERITAS
Certification
N° BR23285



UKAS
MANAGEMENT
SYSTEMS
608

Anexo 6.1. Constancia de participación de los análisis fisicoquímico y microbiológico del AE de
Schinus molle L. (Molle)

| | | |
|---|---|---|
|  | <p>UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS (Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA) FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA CENPROFARMA CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA</p> |  |
| <p>EL DIRECTOR DEL CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO DE LA FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA:</p> | | |
| <p>CONSTANCIA DE PARTICIPACIÓN EN PROCESO DE ANÁLISIS</p> | | |
| <p><i>A la Srta. AGAR LEONOR ZAMBRANO OSPINAL, quien fue participe de la realización de los análisis de EFICACIA ANTIMICROBIANA FRENTE A Candida albicans y Solubilidad en la muestra de "Aceite Esencial de Molle", del 13 al 27 de Setiembre en nuestros Laboratorios de Microbiología y Fisicoquímica del Centro de Control Analítico – CENPROFARMA.</i></p> | | |
| <p><i>Se expide el presente documento a solicitud de la interesada, para los fines que estime por conveniente.</i></p> | | |
| <p>Lima, 15 de Octubre del 2018.</p> | | |
| <p> QE Gustavo Guerra Brizuela Director del Centro de Control Analítico</p> | |  |
| <p>"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"</p> | | |
| <p>Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima I - Perú ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima I E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe</p> | |   |

Anexo 7. Certificado de la cepa *Candida albicans* ATCC 10231

Thermo
SCIENTIFIC

Certificate of Quality

Product Name: C. albicans ATCC 10231 PK/5
Lot Number: 592064

Product Number: R4601503
Expiration Date: 2020-08-30
(YYYY-MM-DD)

This product has been manufactured, processed and packaged in accordance with Quality Systems Regulation, 21 CFR Part 820. Representative samples were tested per Remel Quality Control specifications and were found to meet performance criteria for this product.

Purity:

Standardized aliquots of the rehydrated product are inoculated onto nonselective media and examined for pure growth following the appropriate incubation. Selective and Differential media are also tested where applicable.

Viability And Quantification:

Each organism is recovered from the preserved state within the required time frame and at an acceptable level. Passage number is stated as the current preserved state.

Macroscopic And Microscopic Morphology:

Colony morphology is consistent with documented referenced description.
Traditional staining is performed.

Biochemical Analysis:

Organism exhibits characteristic biochemical and/or enzymatic reactions. Automated and/or conventional testing was performed and results were within established limits. Antimicrobial testing performed where applicable. Results within expected ranges.

CFU/loop: >10(4)

Passage: 3

Gram Reaction: Gram Positive Yeast

Biochemical Profile: Vitek 2C YST

Appearance: Preserved Gel Matrix suspended in inoculating loop

pH: N/A

Signed



Product Performance Technologist

Anexo 8. Certificado del medio de cultivo Agar Sabouraud Dextrosa (ASD)



Page 1 of 1

CERTIFICATE OF ANALYSIS

| | | |
|----------------------------|---|--|
| PRODUCT | CM0041B SABOURAUD DEXTROSE AGAR 500g | Delivery/ Customer information Date Printed 2016.03.29 Delivery No. Customer Customer Order number |
| LOT NUMBER | 1791515 | |
| EXPIRY DATE | 2021.01.31 | |
| DATE OF MANUFACTURE | 2015.12.18 | |

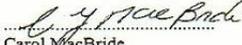
| Physical Characteristics | Results | Specification |
|--------------------------|--------------|---------------|
| Appearance | Straw powder | Straw powder |
| Colour on reconstitution | Straw 2 | Straw 1-2 |
| pH (25°C) | 5.6 | 5.4 - 5.8 |
| Clarity | Clear | Clear |

| Microbiological Performance | Control cfu | Test cfu | Recovery Test % | Description |
|---|-------------|----------|-----------------|-----------------------------|
| Aerobic incubation at 20-25°C for up to 5 days | | | | |
| <i>Saccharomyces carlsbergensis</i> ATCC®2700 | 57 | 59 | 104 | Cream, domed cols |
| <i>Candida albicans</i> ATCC®10231 | 14 | 13 | 93 | Cream, domed cols |
| <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC®16404 | 23 | 21 | 91 | White mycelia, black spores |

Control Medium: Sabouraud Dextrose Agar

A satisfactory result is represented by recovery of positive strains equal to or greater than 70% of the control medium from an inoculum of 10-100 colony-forming units (cfu). Refer to product specification for full details.

Information given is believed to be correct. However, both the information and the product are offered without warranty for any application other than that specified in the current Oxoid Manual. This certificate shall not be reproduced except in full, without written approval of the Product Performance Laboratory, Oxoid Limited, Basingstoke. The results reported were obtained at the time of release.
 Lot Accepted. 2015.12.29


 Carol MacBride
 Product Performance Manager

ATCC is a registered trade mark of the American Type Culture Collection.
 NCTC and National Collection of Type Cultures are registered trade marks of the Health Protection Agency.



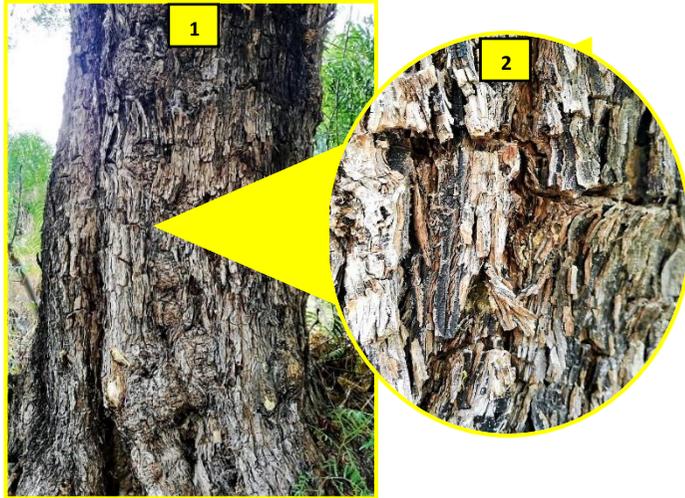
Tested by the Product Performance Laboratory
OXOID LIMITED
 Wade Road, Basingstoke, Hampshire RG24 8PW, England
 oxoid@thermofisher.com www.oxid.com

FDA Reg No. 8010096

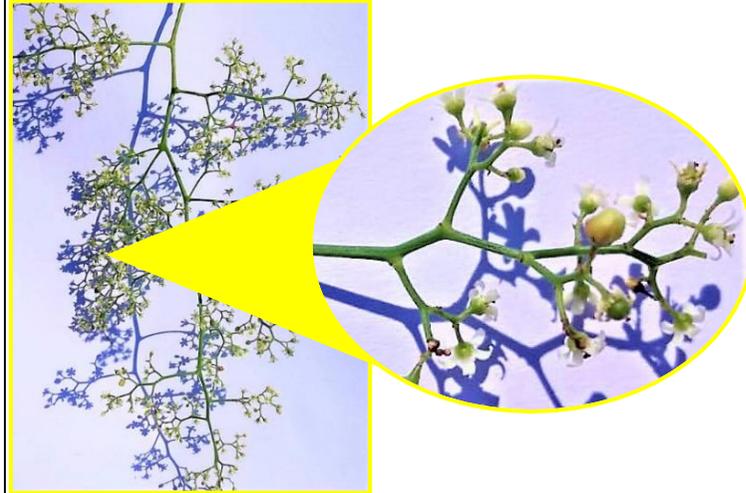
Certificate No. FM 09914

Anexo 9. Partes del árbol de *Schinus molle* L. (Molle)

Anexo 9,1. Tronco (1) y corteza (2)



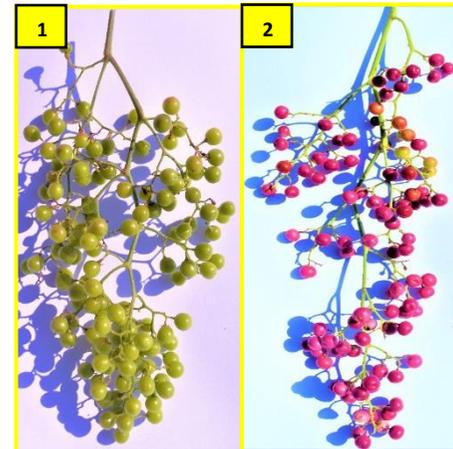
Anexo 9,3. Inflorescencia



Anexo 9,2. Hojas



Anexo 9,4. Frutos verdes (1) y maduros (2)



Anexo 10. Procesos a los que fue sometido la muestra vegetal de *Schinus molle* L. (Molle)

Anexo 10,1. Recolección



Anexo 10,3. Secado



Anexo 10,2. Selección



Anexo 10,4. Rotulado



Anexo 11. Procesos para la prueba de actividad antimicótica del AE de *Schinus molle* L. (Molle) frente a *Candida albicans* ATCC 10231

Anexo 11,1. Pesado del medio de cultivo



Anexo 11,3. Incubación de las placas



Anexo 11,2. Aplicación de los discos

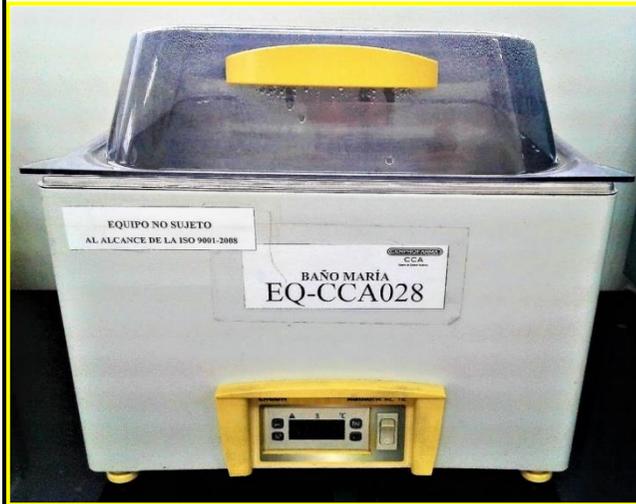


Anexo 11,4. Medición de los diámetros de los halos de inhibición



Anexo 12. Equipos utilizados para la prueba de actividad antimicótica

Anexo 12,1. Baño María



Anexo 12,2. Autoclave



Anexo 13,3. Incubadora

