

ACTIVIDAD ANTIFUNGIGA DE EXTRACTOS ETANOLICOS DE *Schinus molle* SOBRE

Fusarium spp.

Pérez-Pérez N. C.^a, Ortíz-Angeles M. ^a, Porras-Saavedra J.^a

^a División de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo, Mixquiahuala de Juárez, Hidalgo, México. C.P. 42700. jporras@itsoeh.edu.mx.

Recibido 6 de Noviembre de 2017; aceptado 27 de Diciembre de 2017

Palabras clave:

Toxinas,
Dilución hidroalcohólica,
Inhibición

RESUMEN. La creciente demanda de alimentos sanos y seguros con una larga vida útil, han ejercido presión sobre la industria alimentaria para la eliminación de conservantes sintéticos y la adopción de alternativas naturales para atender esta demanda del consumidor. Por esta razón, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antifúngica in vitro de los compuestos bioactivos de *Schinus molle* sobre *Fusarium* spp. De tal manera que, a través de un diseño experimental unifactorial se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* spp., en ensayos biológicos empleando diluciones hidroalcohólicas a diferentes concentraciones de etanol: 0% (T1), 50% (T2), 75% (T3) y 100% (T4). En estas pruebas, se observó que el T2 presentó un porcentaje de inhibición del 37 % sobre *Fusarium*, además en la síntesis de toxinas, reflejado en una disminución del color rosa, característico de la presencia de este hongo.

Key words:

Toxins,
Hydroalcoholic dilution,
Inhibition

ABSTRACT. The growing demand for healthy and safe foods with a long shelf life has put pressure on the food industry for removal of synthetic preservatives and the adoption of natural alternatives to meet this consumer demand. For this reason, the aim of this work was to evaluate the in vitro antifungal activity of the bioactive compounds of *Schinus molle* on *Fusarium* spp. In such a way that, through a unifactorial experimental design, the percentage inhibition of the mycelial growth of *Fusarium* spp. Was determined, in biological tests using hydroalcoholic dilutions at different concentrations of ethanol: 0% (T1), 50% (T2), 75% (T3) and 100% (T4). In these tests, it was observed that the T2 showed a 37% inhibition percentage on *Fusarium*, also in the synthesis of toxins, reflected in a decrease in the pink color, characteristic of the presence of this fungus.

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de hongos en los alimentos conduce a la descomposición de éstos, causando grandes daños económicos. Por otro lado, la producción de toxinas como parte del metabolismo de estos microorganismos en la ingesta alimentaria causa intoxicación o micotoxicosis, de manera particular, el hongo del género *Fusarium* se desarrolla en ambientes con alto contenido de humedad en el sustrato y a baja temperatura. Este género se encuentra generalmente en granos y en productos de cereales; fuente principal de alimentación en la población. Por tal motivo, el consumo de este tipo de alimentos contaminados por *Fusarium* y sus micotoxinas (fumonisinas) tiene como consecuencia la intoxicación y la actividad genotóxica^{1,2}, responsables de la producción de especies reactivas de oxígeno que provocan la oxidación de los componentes celulares. Bajo este contexto, la industria alimentaria se ha centrado en encontrar soluciones que satisfagan plenamente la demanda

de alimentos inocuos y tecnológicamente seguros. Por tal motivo, una alternativa de origen bioquímico es el uso de moléculas con actividad biológica provenientes principalmente de fuentes de origen vegetal que inhiban el crecimiento de *Fusarium* y la producción de fumonisinas. La actividad antifúngica de los compuestos biológicos está relacionada con la concentración y naturaleza química de éstos, la cual puede variar por la fuente vegetal. Dependiendo del método de extracción, los extractos de las plantas pueden contener una gran variedad de moléculas activas, tales como: compuestos fenólicos y aceites esenciales³; que por su naturaleza facilitan la interferencia de procesos metabólicos y fisiológicos⁴. *Schinus molle* presentan propiedades bactericidas y fungicidas, correspondientes a los componentes volátiles, principalmente aceites esenciales, fenoles, flavonoides, taninos, alcaloides, saponinas y esteroides^{5,6}, presentes en hojas y frutos de esta planta⁷. Una forma de obtener los extractos

vegetales es a través de la selección de compuestos bioactivos con potencial antifúngico que puedan ser transferidos sin perder sus propiedades.

En este sentido, el objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad antifúngica *in vitro* de los compuestos bioactivos de *Schinus molle* sobre *Fusarium spp.*

METODOLOGÍA

Material vegetal. Frutos de *Schinus molle* fueron colectados durante el mes de Abril de 2017 en el Municipio de Tezontepec de Aldama Hidalgo, México, para realizar la extracción se desprendió la cutícula.

Tratamientos y diseño experimental. En este proyecto se evaluó la actividad antifúngica a través de un diseño experimental completamente al azar unifactorial con tres repeticiones por unidad de análisis; a partir de extracciones hidroalcohólicas en una relación 1:3 p/v a diferentes concentraciones (Tabla 1). La extracción se realizó por sonicación (Cole-Parmer, USA) durante 2 h. Los extractos se concentraron en un rotavapor (Buchi, R-200, Alemania), entre 80 y 90 °C durante un intervalo de tiempo de 20-30 min.

Ensayos biológicos. Se empleó una cepa de *Fusarium spp.*, sembrada en medio de cultivo agar papa-dextrosa (PDA) a pH = 5.7, el método de siembra fue por punción. Las placas sembradas fueron incubadas (Incubadora Orbital Prendo INO-650 M, México) a 30 °C por 48 h. La actividad biológica *in vitro* se evaluó mediante el método de difusión en medio sólido⁸. Las placas se incubaron a 25 °C, los halos de inhibición se midieron cada 24 h, durante 72 h. Los resultados se obtuvieron por triplicado y expresaron cómo % de inhibición⁹, (Ecuación 1).

$$\% \text{ de inhibición} = \left(100 - \frac{\text{Diametro halo de inhibicion (cm)}}{\text{diámetro de caja Petri (cm)}} \right)$$

Ecuación 1

Análisis estadístico. El efecto entre tratamientos se realizó a través del análisis de varianza (ANOVA) y las diferencias entre tratamientos con la prueba de Tukey-Kramer (para datos normales) con un intervalo

de confianza del 95 %, usando el paquete estadístico GraphPad versión 6.

Tabla 1. Diluciones hidroalcohólicas para la extracción de compuestos con actividad antifúngica de *Schinus molle*.

Tratamiento	Concentración de etanol (% v/v)	Concentración de agua (% v/v)
T1	0	100
T2	50	50
T3	75	25
T4	100	0

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad antifúngica de los extractos de frutos de *Schinus molle* fue cuantificada por el diámetro del halo de inhibición (cm) y el porcentaje de inhibición (Tabla 2). El efecto inhibitorio del extracto hidroalcohólico de los frutos de *Schinus molle* sobre el crecimiento de *Fusarium spp.* es dependiente del contenido de etanol en la dilución. De tal manera que, el porcentaje de inhibición más grande fue de 37 %. Srichana et. al.¹⁰, reportaron el incremento del porcentaje de inhibición de *Fusarium verticillioides* de manera proporcional a la concentración de extractos de betel, inhibiendo el crecimiento de este hongo en un rango de 23- 37 %.

Cabe destacar que el efecto de los extractos hidroalcohólicos provocó en el desarrollo del hongo una disminución en la coloración rosa (Figura 1), debido a la acción de los compuestos bioactivos sobre los mecanismos de granulación del citoplasma, la ruptura de la membrana citoplásmica y la inactivación y/o inhibición de las enzimas intracelulares y extracelulares¹¹. Lo que conlleva a que se vea afectada la excreción de la pigmentación característica del crecimiento micelial y toxicidad del hongo. De tal manera que puede sugerirse que el efecto inhibitorio de los extractos está relacionado con la presencia de compuestos fenólicos (Figura 2) que son extraídos con etanol^{10,12} y con reconocida actividad antimicrobiana y antifúngica^{6,10,13}. Así se concluye que estos extractos naturales, se pueden usar como aditivos antimicrobianos para incrementar la vida de los alimentos, principalmente en cereales y granos.

Tabla 2. Extractos de frutos de *Schinus molle* con actividad antifúngica sobre *Fusarium spp*

Tratamiento	Concentración de etanol (% v/v)	Concentración de agua (% v/v)	Diámetro del halo de inhibición (cm)	Porcentaje de inhibición
Blanco			0.0 ± 0.0	0.0 ± 0.0 ^c
T1	0	100	1.6 ± 0.1	29 ± 2.6 ^b
T2	50	50	2.0 ± 0.0	37 ± 0.0 ^a
T3	75	25	1.5 ± 0.1	27 ± 1.3 ^b
T4	100	0	1.2 ± 0.1	23 ± 0.0 ^a

Letras diferentes indican diferencias significativas, con un intervalo de confianza del 95 %, utilizando una comparación de medias de Tukey

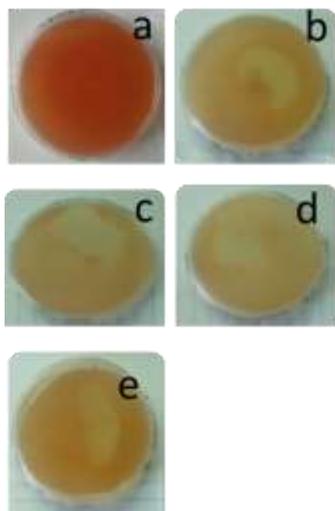


Figura 1. Efecto inhibitorio de los extractos hidroalcohólicos de *Schinus molle* en *Fusarium spp.* (72 h de incubación). a) blanco, b) T1 (0 % etanol), c) T2 (50 % etanol), d) T3 (75 % etanol), e) T4 (100 % etanol).

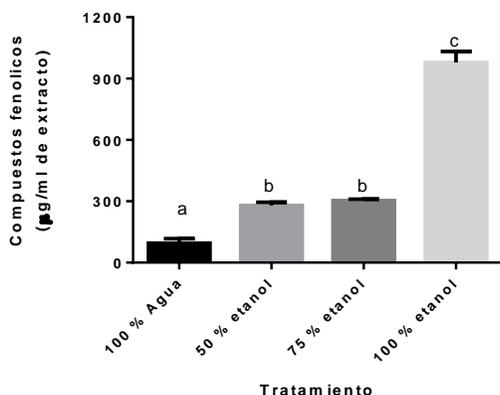


Figura 2. Compuestos fenólicos en extractos de *Schinus molle*. Letras diferentes indican diferencias significativas, con un intervalo de confianza del 95 %, utilizando una comparación de medias de Tukey.

CONCLUSIONES

El extracto de los frutos de *Schinus molle* obtenido con 50 % de etanol presentó mayor efectividad en el porcentaje de inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium spp.*

AGRADECIMIENTOS Y/O RECONOCIMIENTOS

Los autores agradecen al Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo y al Tecnológico Nacional de México por el financiamiento de esta investigación a través del proyecto con clave de registro 399.15-PD.

REFERENCIAS

- Domijan A.M, Zeljezić D, Milić M, Peraica M. 2007. Fumonisin B(1): oxidative status and DNA damage in rats. *Toxicology*, 232(3): 163-169.
- Gelderblom WC, Marasas WF, Lebepe-Mazur S, Swanevelder S, Abel S. 2008. Cancer initiating properties of fumonisin B1 in a short-term rat liver carcinogenesis assay. *Toxicology*, 250 (2-3): 89-95.
- Zorzi, G., Carvalho, E., von Poser, G., & Teixeira, H. F. (2015). On the use of nanotechnology-based strategies for association of complexes matrices from plant extracts. *Revista Brasileira de Farmacognosia*.
- Werdin, J. O., Murray, A. P., & Ferrero, A. A. (2008). Bioactividad de aceites esenciales de *Schinus molle* var. *areira* (Anacardiaceae) en ninfas II de *Nezara viridula* (Hemiptera: Pentatomidae). *Boletín de Sanidad Vegetal Plagas*, 34, 367-376.
- Zahed, N., Hosni, K., BRAHIM, N. B., & Sebei, H. (2011). Essential oil composition of *Schinus molle* L. fruits: an ornamental species used as condiment. *Journal of Food Biochemistry*, 35(2), 400-408.
- Gomes, V., Agostini, G., Agostini, F., dos Santos, A. A., & Rossato, M. (2013). Variation in the essential oils composition in Brazilian populations of *Schinus molle* L.(Anacardiaceae). *Biochemical systematics and ecology*, 48, 222-227.
- Gundidza, M. (1993). Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle* Linn. *Central African Journal of Medicine*, 39(11), 231-234.
- Lima, E. O., Gompertz, O. F., Giesbrecht, A. M., & Paulo, M. Q. (1993). In vitro antifungal activity of essential oils obtained from officinal plants against dermatophytes. *Mycoses*, 36(9-10), 333-336.

9. Cruz–Carrillo A., Rodriguez N. N., Rodriguez C. E. (2010). In vitro evaluation of the antibacterial effect of *Bidens pilosa*, *Lantana camara*, *Schinus molle* and *Silybum marianum*. *Revista U. D. C. A. actualidad & Divulgacion Cientifica* 13 (2), 117-194.
10. Srichana, D., Phumruang, A., & Chongkid, B. (2009). Inhibition effect of betel leaf extract on the growth of *Aspergillus flavus* and *Fusarium verticillioides*. *Science & Technology Asia*, 14(3), 74-77.
11. Pundir, R. K., & Jain, P. (2010). Antifungal activity of twenty two ethanolic plant extracts against food-associated fungi. *Journal Pharmacy Research*, 3(1), 506-510.
12. Murray, A. P., Rodriguez, S. A., & Alza, N. P. (2012). Chemical constituents and biological activities of plants from the genus *Schinus*. *Recent Progress in Medicinal Plants*, 32, 261-287.
13. do Rosário Martins, M., Arantes, S., Candeias, F., Tinoco, M. T., & Cruz-Morais, J. (2014). Antioxidant, antimicrobial and toxicological properties of *Schinus molle* L. essential oils. *Journal of ethnopharmacology*, 151(1), 485-492.