

Características fisicoquímicas y actividad antimicótica del extracto de tomillo sobre cepas *Fusarium oxysporum*

Chemical and physical characteristics and antimicrobial activity of strains on thyme extract *Fusarium oxysporum*

COLCIENCIAS TIPO 1. ARTÍCULO ORIGINAL

RECIBIDO: JULIO 4, 2013; ACEPTADO: AGOSTO 26, 2013

Juan Fernando Balanta
juanferbm@hotmail.com

Leo Ramirez
leoramj@yahoo.es

Luz Dary Caicedo Bejarano
luz.caicedo@correounivalle.edu.co

Universidad Santiago de Cali

Resumen

Se determinó la composición química y la actividad antimicótica del aceite esencial y extracto alcohólico de las hojas y tallos del tomillo (*Thymus vulgaris*) planta de la familia Lamiaceae, por medio del método de Concentración Mínima Inhibitoria [CMI], Norma Icontec NTC 2455. Empleando cepas de *Fusarium oxysporum* sp.Cp1 10070282-80; Cp2 25001242-80; Cp3 6300132-80 aisladas de muestras de uñas de pacientes con onicomicosis. Los resultados más favorables para la actividad fungicida y fungistática, se obtuvieron en el timol (componente químico del tomillo), en concentración de 25 mg/L y el aceite esencial, el cual comparado con el componente anterior presentó menor efectividad con la actividad fungicida de concentración 6250 mg/L y fungistática de 1560 mg/L. Entre tanto el extracto alcohólico presentó una actividad intermedia entre las dos anteriores, con concentraciones de 12500 mg/L y 6250 mg/L de actividad fungicida y fungistática respectivamente. Por lo cual, el timol y el aceite esencial del tomillo se plantean como una posible alternativa para el control de esta especie de hongo.

Palabras Clave

Antimicótica; fungicida; fungistática; onicomicosis; tomillo; Micoter.

Abstract

We determined the chemical composition and antifungal activity of essential oil and alcoholic extract of the leaves and stems of thyme (*Thymus vulgaris*) plant in the family Lamiaceae, by the method of Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Icontec NTC 2455. *Fusarium oxysporum* strains using sp.Cp1 10070282-80; 25001242-80 Cp2, Cp3 6300132-80 nail samples isolated from patients with onychomycosis. The most favorable results for fungicidal and fungistatic activity were obtained in thymol (thyme chemical component) in a concentration of 25 mg / L and the essential oil, which compared with the previous component showed less effectiveness with fungicidal activity concentration 6250 mg / L and fungistatic of 1560 mg / L. Meanwhile alcoholic extract showed intermediate activity between the two, with concentrations of 12,500 mg / L and 6250 mg / L respectively fungicidal and fungistatic. Therefore, thymol and thyme essential oil are proposed as a possible alternative for the control of this species of fungus.

Keywords

Antifungal; fungicidal; fungistatic; onychomycosis; thyme; Micoter.

I. INTRODUCCIÓN

Los hongos constituyen un grupo importante entre los agentes causales de tipo infeccioso que provocan enfermedades no solo en las plantas y animales sino también en seres humanos.

El número exacto de hongos patógenos se desconoce, pero se estima superior a las diez mil especies pertenecientes a diversas categorías taxonómicas (Asocolflores, 1995).

El diagnóstico de la onicomycosis causada por especies de *Fusarium sp.*, se ha incrementado en los últimos años gracias a la adecuada correlación de los hallazgos del laboratorio con la epidemiología y manifestaciones clínicas del paciente (Relloso et al., 2012; Pérez, Cárdenas, & Hoyos, 2011).

Este hongo es de gran importancia en clínica, debido a que responde de una manera muy pobre a los tratamientos antimicóticos convencionales, con una tasa de respuesta del 30% en onicomycosis, llegando a causar una micosis diseminada de muy mal pronóstico en pacientes que sufran algún grado de inmunosupresión (Castro-López, 2009; Guilhermetti, Takahachi, Shinobu, & Svidzinski, 2007).

Por otra parte, la utilización de plantas con fines medicinales para el tratamiento de enfermedades ha ocurrido a lo largo de la historia de la humanidad, lo que ha generado que los productos de origen vegetal sean mayormente estudiados en su parte química con énfasis en los metabolitos secundarios, los cuales están implicados en el control biológico contra patógenos o plagas (Kagale, Marimuthu, Thayumanavan, Nandakuman, & Samiyappan, 2004), como es el caso de *Thymus vulgaris* L, la cual es una planta que pertenece a la familia *Lamiaceae* (Ken, 1951; Yazdani, Ali, & Nazari, 2004) y presenta diversas actividades biológicas con acción antiséptica, expectorante, carminativa y antiespasmódica relacionadas con el contenido de timol y carvacrol, que constituyen entre el 40 y el 50% de su aceite esencial (Siaty et al., 2005; Daferera, Ziogas, & Polissiou, 2000).

Comparados con el fenol, el timol y el carvacrol presentan mayor actividad antibacteriana y fungicida, pero menos toxicidad (Guillén & Manzanos, 1998).

Los tratamientos médicos para control de esta enfermedad son de largo plazo y alto costo y, en muchas ocasiones, poco eficaces –como es el caso del itraconazol– (Carrillo-Muñoz et al., 2001; por ello, como alternativa

al control químico de este hongo patógeno con medicamentos se propone un manejo natural integrado del extracto alcohólico y del aceite esencial de plantas aromáticas, específicamente de tomillo (*Thymus vulgaris*), planta que no ha sido evaluada.

El presente trabajo presenta los resultados de una investigación en la cual se evalúa la actividad antimicótica y la relación de la composición química del aceite esencial y el extracto alcohólico del tomillo (*Thymus vulgaris* L) contra varias cepas de *Fusarium oxysporum* aisladas de pacientes con onicomycosis.

II. METODOLOGÍA

Mediante análisis fitoquímicos y fisicoquímicos se caracterizaron hojas y tallos de tomillo (*Thymus vulgaris*) obtenidos de una plantación en la vereda La Dolores del Municipio de Palmira.

Las propiedades antimicrobianas se analizaron por el método de concentración inhibitoria mínima [CMI] frente a cepas de *Fusarium oxysporum* aisladas de pacientes con onicomycosis, empleando alcohol etílico al 96% como muestra de control y como muestras patrones Itraconazol y un medicamento homeopático (Micoter). La Tabla 1 presenta los agentes antimicóticos y las cepas de microorganismos analizados.

Tabla 1. Agentes antimicóticos y cepas de microorganismos analizados

Agentes antimicóticos	Cepas del microorganismo
<ul style="list-style-type: none"> • Aceite esencial de tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>) • Extracto alcohólico de tomillo (<i>Thymus vulgaris</i>) • Alcohol etílico 96% • Timol • Itraconazol • Micoter, medicamento homeopático 	<ul style="list-style-type: none"> • Cepa 1. N° de referencia: 10070282 -80 • Cepa 2. N° de referencia: 35001242 -80 • Cepa 3. N° de referencia: 6300132 -80

Las cepas de *Fusarium oxysporum* utilizadas en esta investigación se obtuvieron de uñas de pacientes con Onicomycosis de una clínica de la ciudad de Cali, y se encuentran etiquetadas con un número de referencia interno de la clínica.

A. Extracción y preparación de las soluciones de trabajo

Previo a la extracción y preparación de soluciones, se

realizó la limpieza, desinfección, secado y caracterización de la planta recolectada. Esta última estuvo a cargo del Doctor Philip Silverstone, Ph.D en Biología, Ecología y Taxonomía Vegetal de la Universidad de Southern, Carolina (Estados Unidos) y actual Director del Herbolario de la Universidad del Valle.

1) Extracto alcohólico

Se mezcló 14 g de tomillo con 170 g de alcohol etílico al 96% por 8 días, posteriormente se filtró y el tomillo separado se dejó en maceración por 8 días más con la misma cantidad de alcohol al 96 %. La unión de ambos extractos se llevó al rotavaporador donde se obtuvo un extracto crudo (Lourido & Castillo 2009).

2) Extracción del aceite esencial del tomillo

Se utilizó el proceso de hidrodestilación para el cual se pesaron 200 g de tomillo finamente picado y se mezclaron con 250 mL de agua destilada en un balón aforado de 1000 mL. Posteriormente se calentó esta mezcla a una temperatura promedio de 80°C durante 90 minutos donde finalmente se obtuvo un volumen aproximado de 0,3 mL de aceite esencial.

3) Solución Itraconazol (1%)

Se disolvió 1,000 g de tabletas de Itraconazol trituradas en 100 mL de agua destilada; Las tabletas utilizadas vienen en una presentación de 100 mg cada una y son elaboradas por el Laboratorio Suiphar de Colombia.

4) Solución de timol

Se utilizó 1,000 g de Thymol (Sigma-Aldrich) con una pureza del 99,9% el cual se diluyó en 1000 mL de etanol para obtener una solución al 0,1 %.

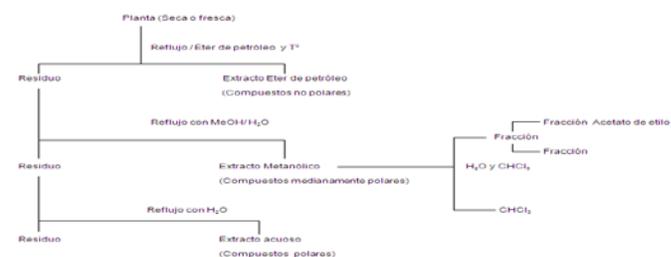
5) Medicamento homeopático

El producto antimicótico usado responde bajo el nombre comercial de Micoter solución externa fabricado por el laboratorio Hemaro. Se utilizó a una concentración del 100%.

B. Caracterización fitoquímica de la muestra de tomillo, *Thymus vulgaris* L

Para el estudio fitoquímico del tomillo se realizó la marcha representada en el flujograma de la Figura 1.

Figura 1. Caracterización fitoquímica de la muestra de tomillo



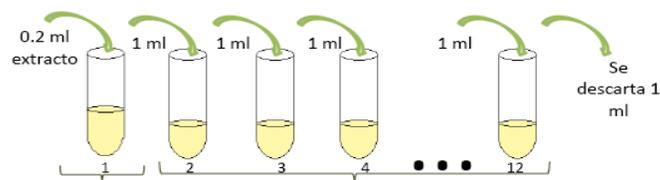
C. Análisis fisicoquímico del extracto

En este análisis se realizó la caracterización del extracto del tomillo por cromatografía de capa fina utilizando como fase estacionaria sílica y como fase móvil cloroformo. Igualmente se realizaron análisis organolépticos, de densidad e índice de refracción.

D. Concentración mínima inhibitoria

Esta prueba se desarrolló según la Norma Icontec NTC2455 (2000), realizando previamente la preparación del inóculo y el medio de cultivo con sus respectivas diluciones. Posteriormente, se realizó el ensayo de CMI adicionando 0,2 ml de agente antimicótico en el primer tubo de las 12 diluciones; de este primer tubo se transfirió 1 ml al segundo tubo, proceso que se repitió hasta completar los doce tubos, descartando 1 ml del tubo final, tal como se observa en la Figura 2.

Figura 2. Pruebas CMI en caldo Sabouraud dextrosa



Para la inoculación se depositaron 0,1 ml del inóculo en cada tubo y se incubó a 37°C durante 7 días. Igualmente se llevó un control positivo y negativo que consistía en dos tubos de ensayo inoculados con el medio sin el agente para el control positivo y un tercer tubo solo con el medio para el control negativo.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A. Caracterización fitoquímica del tomillo

Los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica coinciden con la composición de metabolitos secundarios de la planta, y se relacionan en la Tabla 2. Estos

compuestos químicos encontrados en la planta de tomillo son congruentes con resultados de reportes previos. En el extracto de éter de petróleo (compuestos no polares) y el extracto metanólico (compuestos medianamente polares), se encontraron triterpenos y esteroides que son compuestos derivados de la ruta del ácido mevalónico (Ávalos & Pérez, 2009). Igualmente se evidenció la presencia de fenoles y taninos en el extracto acuoso (compuestos polares) y en el extracto metanólico.

Por otra parte, se detecto un fuerte aroma característico del tomillo en el extracto acuoso (compuestos polares) proveniente de los compuestos volátiles mayoritarios (Díaz & Perez, 2006) o aceites esenciales que son mezclas de alcoholes, aldehídos, cetonas y terpenoides, responsables de los olores y sabores característicos de estas plantas, algunos de los cuales actúan como repelentes de insectos o insecticidas.

Los terpenos que se encuentran en los aceites esenciales son generalmente monoterpenos (derivan de la vía metabólica del ácido mevalónico) con diez átomos de carbono como por ejemplo el timol, carvacrol, p-cimeno y linalol, característicos del *Thymus vulgaris* y su aroma está relacionado con su contenido.

Tabla 2. Características fitoquímicas del tomillo

Extracto	Prueba fitoquímica utilizada	Resultados obtenidos
CHCl ₃ inicial (derivado del extracto de éter de petróleo).	Triterpenos y Esteroides	Positivo: color violeta, presencia de triterpenos
Metanólico	Flavonoides y Antocianinas,	Negativo: no se observa coloración roja al adicionar octanol
	Antraquinonas	Negativo: no se observa color rojo púrpura al adicionar el amoníaco
Extracto Acuoso	Saponinas	Negativo para saponinas: capa de espuma < a 5 mm e inestable
	Taninos y Fenoles	Positivo: coloración verde con FeCl ₃ , fenoles y taninos de catecol
	Aceites Volátiles	Positivo: se detecta fuerte aroma característico del tomillo
Acetato de Etilo	Flavonoides y alcaloides	Negativo: no se produjo ningún color rojo
MeOH/H ₂ O	Fenoles y taninos	Positivo: Se obtuvo coloración verde al adicionarle FeCl ₃ .
CHCl ₃ producto de extracción fracción metanólica	Triterpenos, esteroides antraquinonas	El resultado fue igual que el tratado con el extracto de éter. Positivo para triterpenos y negativo para antraquinonas.

B. Caracterización del tomillo por cromatografía de capa fina

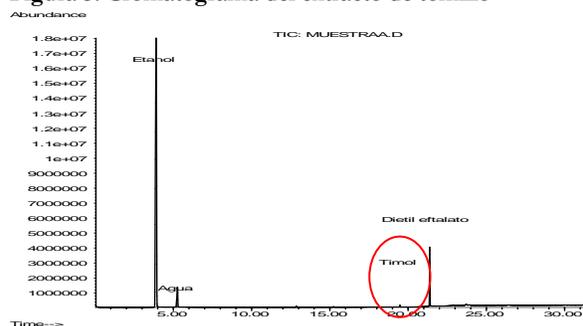
La cromatografía de capa fina presentó tres componentes diferentes de los cuales uno corresponde al timol dado su similitud con el estándar respectivo.

Rf extracto tomillo: $4.4/6.5 = 0.68$

Rf estándar: $4.3/6.5 = 0.66$

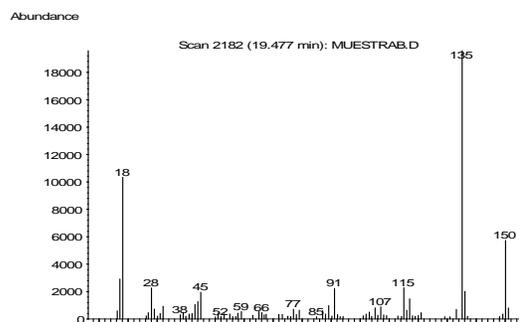
Entre tanto, la Figura 3 muestra la separación de dos componentes orgánicos principalmente (dietil ftalato y timol) en menos de 25 minutos. Donde el timol por ser el compuesto de menor peso molecular presenta un menor tiempo de retención (19,30 minutos), comparado con el dietil ftalato (21,20 minutos).

Figura 3. Cromatograma del extracto de tomillo



La identificación por espectroscopia de masas del timol en el extracto alcohólico de tomillo separado mediante cromatografía de gases (Figura 4) mostró los principales fragmentos de masas, donde el timol es un compuesto tipo fenol con picos moleculares intensos por estabilidad el sistema aromático ionizado y de características similares al tipo fenil-alcano $C_6H_5(CH_2)_n^+$ (m/z 77, 91, 105,119). La intensidad de M^+ es grande y la tendencia a la protonación, menor que en los alcoholes. El espectro tiene un carácter aromático pronunciado, y, debido a la presencia de oxígeno, los números de masa de los miembros superiores de la secuencia de los fragmentos típicamente aromáticos son una o dos unidades de masa mayores.

Figura 4. Espectro de masas para la muestra del extracto de tomillo



C. Análisis organolépticos, densidad e índice de refracción

Los análisis organolépticos de aspecto, color, olor y densidad obtenidos se relacionan en la Tabla 3:

Tabla 3. Análisis organolépticos

Característica	Observación
Aspecto	líquido ligeramente turbio
Color	Verde
Densidad a 25°C g/ml	0,860
Índice de refracción a 25°C	1,325

D. Concentración mínima inhibitoria

1) Aceite esencial del tomillo 50%

La propiedad antifúngica del aceite esencial de tomillo fue igual para las cepas de *Fusarium oxysporum* 10070282 -80 y 35001242 -80, donde se observó el crecimiento de la cepa a partir del tubo 7 (actividad fungistática) a una concentración de 1560 ppm o 0,16 % (ver Figura 5), mientras que la cepa 6300132 -80 presentó más resistencia al antimicótico; el crecimiento de la cepa se dio a partir del tubo 6 a una concentración de 3120 ppm o 0,31 %.

Figura 5. CMI de la cepa de *Fusarium oxysporum* 10070282 -80 en aceite esencial de *Thymus vulgaris*



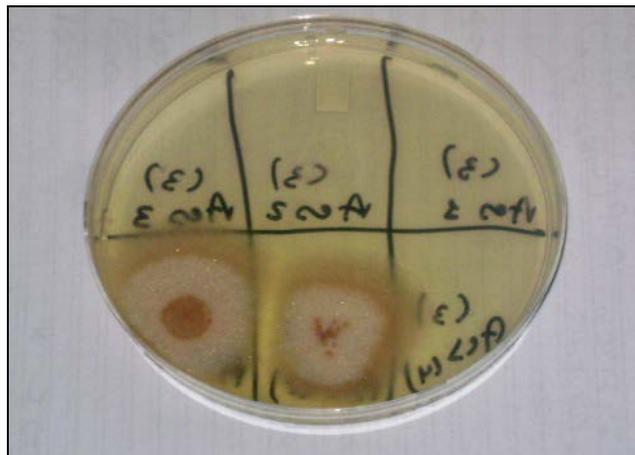
Sin embargo, al corroborar el crecimiento del hongo en medios sólidos, como el agar Sabouraud, se pudo determinar que la actividad fungicida se dio a partir del tubo 4 a una concentración de 6250 ppm o 0,63% para cada una de las cepas de *Fusarium oxysporum*, como muestra la Figura 6.

De lo anterior se logró comprobar que la propiedad fungicida del aceite esencial de tomillo, depende del porcentaje de timol (Giordani et al., 2004; Šegvić-Klarić, Kosalec, Mastelić, Pieckova, & Pepeljnak, 2007; Pina-Vaz et al., 2004; Kumar, Shukla, Singh, Prasad, & Dubey, 2008).

Tal propiedad se puede optimizar utilizando otras variedades de la planta (Fonnegra & Jiménez, 2006), que

contengan un mayor porcentaje de estos metabolitos, ya que las concentraciones en que estos componentes presentan una importante variabilidad debido a numerosos parámetros significativos que afectan la composición química de esta planta, principalmente la localización geográfica y las condiciones climáticas y ambientales.

Figura 6. Crecimiento de la muestra de los tubos 5 y 6 de la cepa *F. oxysporum* 10070282-80 proveniente del ensayo de CMI



2) Extracto alcohólico de *Thymus vulgaris* 50%

Este presentó un nivel intermedio en la inhibición del microorganismo, arrojando una concentración de 6250 ppm de actividad fungistática para las cepas *Fusarium oxysporum* 10070282 -80 y 6300132 -80, observándose crecimiento a partir del tubo 5, a diferencia de la cepa 35001242 -80 en donde se evidenció a partir del tubo 4 a una concentración de 12500 ppm. Por otra parte, el medio sólido, permitió observar que la capacidad fungicida también disminuyó en el extracto alcohólico con respecto al aceite esencial.

La Tabla 4 presenta un resumen de los resultados de CMI de los antimicóticos utilizados contra las cepas de *Fusarium oxysporum*.

En ella se puede observar que, tanto el aceite esencial, como el extracto alcohólico de tomillo, son una buena alternativa para inhibir el crecimiento del hongo, ya que la vía de inhibición viene dada por las concentraciones de timol que los constituyen, mientras que otras fuentes antifúngicas como el medicamento homeopático (Micoter) —que demostró un tener efecto inhibitorio— y el itraconazol —que no presentó ningún tipo de actividad fungicida y fungistática—, indican que los antifúngicos compuestos por timol generan mejores resultados.

Tabla 4. Resumen de los estudios de CMI de los antimicóticos utilizados contra las cepas de *Fusarium oxysporum*

Antimicótico	CMI en ppm (mg/L)			Actividad fungicida		
	Actividad fungistática		Cepa C	Actividad fungicida		
	Cepa A	Cepa B		Cepa A	Cepa B	Cepa C
Timol 0,1%	25	25	25	25	25	25
Aceite esencial 50%	1560	1560	3120	6250	6250	6250
Extracto alcohólico de tomillo 50%	6250	12500	12500	12500	25000	25000
Medicamento homeopático 100%	25000	25000	25000	25000	25000	25000
Etanol 96 %	100.000	100.000	100.000	Negativa	Negativa	Negativa
Itraconazol 1 %	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa

IV. CONCLUSIONES

La planta analizada corresponde a la especie *Thymus vulgaris*, la cual en su composición química presentó metabolitos secundarios tales como el timol y carvacrol, que demostraron tener propiedades fungicidas probadas sobre cepas de *Fusarium oxysporum* sp., causantes de la onicomiosis. La acción antifúngica depende de la concentración de dichos metabolitos, presentes en mayor cantidad en el aceite esencial de tomillo (40 a 50%) el cual demostró actividad antimicótica con una dosis de 1560 a 6250 ppm.

Los agentes antimicóticos utilizados presentaron en su composición química compuestos y principios activos que tuvieron efectos inhibitorios sobre el crecimiento de *Fusarium* sp., estos fungicidas se muestran de acuerdo a su efectividad en el siguiente orden: Timol > aceite esencial de tomillo > extracto alcohólico > medicamento homeopático > etanol > Itraconazol.

Los agentes antimicóticos utilizados en este estudio bajo condiciones *In vitro* tuvieron efectos inhibitorios significativos frente a el crecimiento de microorganismos y dada su variada composición química se podrían aprovechar en mezclas para su uso en tratamientos clínicos y fitopatológicos.

Como complemento al trabajo realizado se recomienda realizar un estudio sobre la concentración de timol en el aceite esencial y en el extracto alcohólico para determinar un protocolo normalizado para la concentración de timol y compararlo con respecto a un estándar del mismo, para así poder establecer con certeza si otros constituyentes del aceite y/o del extracto generan actividad antimicótica.

Los estudios aquí realizados y los proyectados pueden ser extensivos a otras especies del genero *Thymus*; se recomienda su realización para analizar el porcentaje de

metabolitos secundarios con efectos antimicóticos presente en otras especies, algo que podría permitir la selección de la más eficiente o costo efectiva.

Los métodos de extracción desempeñan un papel importante en la composición química de los aceites esenciales, razón por la cual se recomienda probar con otros métodos de extracción diferente a la hidrodestilación, para medir de qué manera se afectan los resultados obtenidos en esta investigación.

La variación en la composición química de la planta depende del momento de su recolección, puesto que, por ejemplo, en su etapa de floración se incrementa la producción de metabolitos secundarios; dada la escasa literatura al respecto, se recomienda replicar este estudio en diferentes estadios de crecimiento de la planta, con el mismo propósito de identificar aquellos que ofrecen mayor eficacia.

Para terminar, dado que los diferentes antimicóticos utilizados presentaron buenas propiedades fungicidas en condiciones *In vitro*, se sugiere la elaboración de un producto que permita probar su efectividad *In vivo*.

V. REFERENCIAS

- Asocollfiores (1995). *El manejo integrado de plagas y enfermedades en floricultura*. Bogotá, Colombia: Asocollfiores
- Ávalos, A., Pérez-Urria, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)* [serie Fisiología Vegetal], 2(3), 119-145
- Badi, H.N., Yazdani, D., Ali, S.M., & Nazari, F. (2004). Effects of spacing and harvesting time on herbage yield and quality/quantity of oil in thyme *Thymus vulgaris* L. *Industrial Crops and Products*, 19(3), 231-236
- Carrillo-Muñoz, A. J., Quindós, G., Ruesga, M., Brió, S., del Valle, O., Rodríguez, V., ... & Santos, P. (2001). Actividad del itraconazol frente a aislamientos clínicos de *Aspergillus* spp. y *Fusarium* spp. Determinada por el método M38-P del NCCLS. *Revista Española de Quimioterapia*, 14(3), 281-285.
- Castro-López, N., Casas, C., Sopo, L., Rojas, A., Del Portillo, P., Cepero de García, M. C., & Restrepo, S. (2009). *Fusarium* species detected in onychomycosis in Colombia. *Mycoses*, 52(4), 350-356.
- Daferera D.J, Ziogas B.N., Polissiou MG. CG-MS Analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxity on *Penicillium digitatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(6), 2576-2581
- Díaz-Maroto, M.C., & Perez-Coello. (2006). Análisis de los compuestos responsables del aroma de las especies. *Real Sociedad Española de Química*, 102(3), 31-35.
- Fonnegra. R. & Jiménez, S. (2006). Plantas medicinales aprobadas en Colombia. Medellín, Colombia: Universidad de Antioquia.
- Giordani, R., Regli, P., Kaloustian, J., Mikail, C., Abou, L., & Portugal, H. (2004). Antifungal effect of various essential oils against *Candida albicans*. Potentiation of antifungal action of amphotericin B by essential oil from *Thymus vulgaris*. *Phytotherapy Research*, 18(12), 990-995.
- Guilhermetti, E., Takahachi, G., Shinobu, C. S., & Svidzinski, T. I. E. (2007). *Fusarium* spp. as agents of onychomycosis in immunocompetent hosts. *International journal of dermatology*, 46(8), 822-826
- Guillén, M.D. & Manzanos, M.J. (1998). Study of the composition of the different parts of a Spanish *Thymus vulgaris* L plant. *Food Chemistry*, 63(3), 373-383
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación [Icontec]. (2000). Norma Técnica Colombiana NTC 2455 [tercera actualización]. Bogotá,

Colombia: Icontec

- Kagale, S., Marimuthu, T., Thayumanavan, B., Nandakuman, R., & Samiyappan, R. (2004). Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Physiological and molecular plant pathology*, 65(2), 91-100
- Ken, H.W.Y. (1951). Drogas de origen vegetal - Mejorana. En *Tratado de Farmacognosia*, México D.F., México: Atlante.
- Kumar, A., Shukla, R., Singh, P., Prasad, C. S., & Dubey, N. K. (2008). Assessment of *Thymus vulgaris* L. essential oil as a safe botanical preservative against post harvest fungal infestation of food commodities. *Innovative. Food Science & Emerging Technologies*, 9(4), 575-580.
- Lourido, A. & Castillo, A. (2009). *Comparación de la actividad antimicrobiana del tomillo (Thymus vulgaris L.) con dos conservantes utilizados en cosméticos, té tree oil y triclosán* [tesis]. Universidad Santiago de Cali: Colombia
- Pérez, J. E., Cárdenas, C., & Hoyos, A. M. (2011). Clinical, epidemiological and microbiological characteristics of onychomycosis in a reference laboratory in Manizales (Caldas), 2009. *Infectio*, 15(3), 168-176.
- Pina-Vaz, C., Goncalves Rodrigues, A., Pinto, E., Costa-de-Oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L., & Martinez-de-Oliveira, J. (2004). Antifungal activity of *Thymus* oils and their major compounds. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 18(1), 73-78.
- Relloso, S., Arechavala, A., Guelfand, L., Maldonado, I., Walker, L., Agorio, I., & Bianchi, M. (2012). Onicomycosis: estudio multicéntrico clínico, epidemiológico y micológico. *Revista Iberoamericana de Micología*, 29(3), 157-163
- Šegvić Klarić, M., Kosalec, I., Mastelić, J., Pieckova, E., & Pepeljnak, S. (2007). Antifungal activity of thyme (*Thymus vulgaris* L.) essential oil and thymol against moulds from damp dwellings. *Letters in Applied Microbiology*, 44(1), 36-42.
- Siatis, N.G., Kimbaris, A.C., Pappas, C.S., Tarantilis, P.A., Daferera, D.J., & Polissiou, M.G. (2005). Rapid Method for Simultaneous Quantitative Determination of Four Major Essential Oil Components from Oregano (*Oreganum* sp.) and Thyme (*Thymus* sp.) Using FT-Raman Spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 202-206

CURRÍCULOS

Juan Fernando Balanta. Químico, egresado de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali.

Leo Ramirez. Químico, egresado de la Facultad de Ciencias Básicas de la Universidad Santiago de Cali.

Luz Dary Caicedo Bejarano. Licenciada en Ciencias de la Educación de la Universidad Santiago de Cali [USC] (1986), Magister en Microbiología de la Universidad del Valle (1995), Especialista en Docencia para la Educación superior de la USC (2001) y estudiante de Maestría en Micología Médica de la Universidad Nacional del Nordeste (Argentina), cohorte 2012-2013. Trabaja con el Departamento de Microbiología de la Universidad del Valle, en el área de Micología Médica (apoyo a docencia, investigación y extensión) desde 1993. Es docente hora cátedra de la Universidad Santiago de Cali desde el año 1988 y directora del Grupo de Investigación en Micología (GIM) de esta universidad. Su línea de investigación en el GIM es Biotecnología de hongos.