



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y
BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga Del
Hierro”**



**COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA
ESPECIE *Brassica napus L.***

www.bdigital.ula.ve

Autor:

Undibal J. López R.

Tutora:

Prof. Diolimar Buitrago.

Mérida, Febrero de 2023.

AGRADECIMIENTO

Gracias a Dios porque en su inmensa bondad me permitió poder culminar esta investigación y estar presente hoy, a pesar de las circunstancias que se me presentaron, a mis ángeles por cuidarme y guiarme en momentos de dificultad y hoy estoy vivo presentando este proyecto.

A la Ilustre Universidad de los Andes, por abrirme las puertas del conocimiento y permitirme formarme académicamente esta gran casa de estudio.

A la Facultad de Farmacia y Bioanálisis y a todos los profesores y técnicos que me orientaron, formaron y ayudaron para culminar mis materias.

Al Instituto de Investigaciones “Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro” en especial a la Prof. Rosa Aparicio (siempre agradecido por salvar mis aceites, eterna gratitud), Prof. Luis Rojas, Prof. Yndra Cordero, Prof. Alida Pérez, Prof. Ysbelia Obregón y al Sr. Emilio Salazar, a todos por su gran colaboración, buena disposición y ayuda.

A mi tutora Prof. Diolimar Buitrago por su dedicación, tiempo, consejos y paciencia para que se logrará esta buena investigación.

A mi madre que siempre con su amor siempre ha sido fuente de inspiración y motivación en todos los sentidos, sobre todo para poder culminar este proyecto.

A mi Familia en Belén y tío Jesús por su apoyo y estar siempre pendiente de mi investigación con gran interés, esperando los buenos resultados.

A mis tías (Albis, Egleé y Miriam) por siempre apoyarme en todo momento y con su cariño, siempre esperando lo mejor de mí, llenándome de motivación.

A mis hermanos, por su apoyo y entusiasmo, Enzo aunque estás en la distancia siempre recibí su apoyo y ánimos para continuar.

A mis primos (Frank, Vanesa, Valeria, y Zuleima) por siempre estar allí colaborándome, por cada palabra de ánimo y tratando siempre de ayudar.

A mis amigos de vida, de trabajo, de natación y de montaña, gracias por su motivación, apoyo, cariño, buenas energías en cada momento del transcurso de esta investigación.

A mis compañeros de la universitaria, por compartir conocimientos y experiencias, ayudándome a continuar en cada paso.

¡Gracias a todos, siempre contarán con mi gratitud, transformada en buenos deseos y energías positivas!

DEDICATORIA

Dedicada a las montañas de mi Mérida querida, lugar donde alberga una gran variedad de especies de plantas, como la Brassica napus L. Sus semillas dan sabor a las comidas parameras, sus flores llenan de color amarillo a los páramos merideños, sus hojas respiran el aire puro de la cordillera andina, sus tallos danzan al son de la brisa fría de la sierra y sus raíces se mantienen arraigadas a la tierra andina venezolana.

Dedicada a las personas que han viajado antes de lo esperado y que por la inclemencia del tiempo no pudieron ver materializado este trabajo, pero quienes siempre apoyaron y creyeron en sus resultados. Hoy lo verán con regocijo desde donde se encuentren.

Undibal López.



FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
“Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga Del Hierro”
LINEA DE INVESTIGACION: PRODUCTOS NATURALES



COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA DE LA ESPECIE *Brassica napus L*

RESUMEN

Autor:

Undibal López
C.I.: 18.965.376

Tutora:

Prof. Diolimar Buitrago

El objetivo del presente estudio fue determinar la composición química y la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas, flores y tallos de la especie *Brassica napus L*, frente a diversas cepas Gram positivas y Gram negativas. El material vegetal se recolectó en la Sierra de La Culata, en el páramo merideño. Los aceites esenciales se obtuvieron mediante el proceso de hidrodestilación. Posteriormente, su composición química fue analizada cualitativamente y cuantitativamente mediante el método cromatografía de Gases acoplado a Espectrometría de Masas, logrando la identificación 7 compuestos predominando el 3-butenil isotiocianato en hojas (50,57%); en flores (42,60 %) y tallos (76,02%); *trans*-3-hexen-1-ol (31,05 %) en hojas y en flores (17,63%) entre otros compuestos. La actividad antibacteriana de los aceites esenciales se determinó mediante el método difusión en agar (Kirby - Bauer) con la medición de los halos de inhibición obtenidos por los aceites esenciales de hojas, flores y tallos, resultando en bacterias Gram positivas, *S. aureus* un diámetro de inhibición de 25 mm para el aceite esencial de hojas y flores, en los tallos de 18 mm; *E. faecalis* flores 18 mm, hojas 14 mm y tallos 10 mm. Gram negativas, *E. coli*, aceite esencial de tallos 21 mm, hojas 20 mm y flores 17 mm, *P. aeruginosa*, hojas y flores 10 mm, tallos 9 mm y en *K. pneumoniae*, 30 mm para los tres aceites esenciales. Demostrando una muy buena actividad antibacteriana.

Palabras clave: *Brassica napus L*, aceites esenciales, composición química, actividad antibacteriana.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
VEREDICTO	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	v
RESUMEN	vi
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE GRÁFICAS	xiii
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xiv
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. EL PROBLEMA	3
Planteamiento del Problema	3
Justificación de la investigación	4
Objetivos de la Investigación	5
Alcances y Limitaciones de la Investigación	6
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	8
Trabajos Previos	8
Antecedentes Históricos	12
Bases teóricas	16
Familia Brassicacea	16
Características botánicas de la familia Brassicacea.....	16
Distribución geográfica de la familia Brassicacea.....	16
Composición química de la familia Brassicacea.....	17

ÍNDICE DE CONTENIDO

(continuación)

Usos de la familia Brassicaceae.....	17
Actividad biológica de la familia Brassicaceae.....	18
Género <i>Brassica</i>	18
Origen del género <i>Brassica</i>	19
Distribución geográfica del género <i>Brassica</i>	19
Composición química del género <i>Brassica</i>	20
Usos del género <i>Brassica</i>	24
Actividad biológica del género <i>Brassica</i>	24
Especie <i>Brassica napus L</i>	25
Origen de la especie <i>Brassica napus L</i>	25
Características botánicas de la especie <i>Brassica napus L</i>	26
Distribución geográfica de la especie <i>Brassica napus L</i>	26
Composición química de la especie <i>Brassica napus L</i>	27
Usos de la especie <i>Brassica napus L</i>	27
Metabolitos secundarios	29
<i>Clasificación de los metabolitos secundarios</i>	29
Aceites esenciales	30
Clasificación de los aceites esenciales.....	30
Métodos de extracción de aceites esenciales.....	32
<i>Hidrodestilación</i>	32
<i>Destilación previa maceración</i>	33
<i>Extracción: por arrastre con vapor de agua</i>	33
<i>Extracción con solventes volátiles</i>	34

ÍNDICE DE CONTENIDO

(continuación)

<i>Extracción con fluidos supercríticos</i>	34
<i>Enflorado o enfleurage</i>	34
<i>Extracción con microondas</i>	35
Uso de los aceites esenciales.....	35
Actividad biológica de los aceites esenciales.....	36
Composición química de los aceites esenciales.....	37
Método de determinación de componentes de los aceites esenciales ...	43
<i>Cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas</i>	43
Bacterias	43
Morfología bacteriana.....	44
Pared celular.....	45
Clasificación de las Bacterias.....	45
<i>Bacterias Gram positivas</i>	46
<i>Bacterias Gram negativas</i>	47
Resistencia a los antimicrobianos.....	49
Método de determinación de la actividad antibacteriana	50
Difusión en disco Kirby- Bauer.....	50
Definición operacional de términos	50
Operacionalización de las Variables	51
Hipótesis	52
CAPÍTULO III. MARCO METODOLOGICO	53
Tipo de investigación	53

ÍNDICE DE CONTENIDO

(continuación)

Diseño de la investigación.....	53
Población y muestra.....	54
Sistemas de variables.....	54
Instrumento de recolección de datos.....	54
Procedimientos o metodología.....	55
Muestra vegetal.....	55
Obtención del aceite.....	55
Análisis de la composición química del aceite.....	56
Análisis microbiológico.....	56
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	62
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	77
Conclusiones.....	77
Recomendaciones.....	78
ANEXOS.....	80
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N°		Pág.
1	Clasificación taxonómica de la familia Brassicaceae.....	17
2	Nombres de algunas especies de <i>Brassica</i>	21
3	Composición química de algunas especies de <i>Brassica</i> ...	23
4	Clasificación taxonómica de la especie <i>Brassica napus</i> L.	27
5	Composición química de la especies de <i>Brassica napus</i> L	28
6	Variable independiente.....	52
7	Variable dependiente.....	52
8	Características físicas del aceite esencial de las hojas, flores y tallos de la especie <i>Brassica napus</i> L.....	63
9	Compuestos del aceite esencial de las hojas, flores, tallos de la especie <i>Brassica napus</i> L.....	64
10	Estructuras de los componentes volátiles encontrados en el aceite esencial de las hojas, flores y tallos de <i>Brassica napus</i> L.....	66
11	Resultados de la actividad antibacteriana.....	71
12	Tabla comparativa con la interpretación de los diámetros de los halos por CLSI.....	74

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°		Pág
1	Estructura de algunos compuestos químicos presentes en el género <i>Brassica</i>	22
2	Monoterpeno.....	38
3	Sequiterpeno.....	38
4	Hidrocarburos alifáticos.....	39
5	Derivado del benceno.....	40
6	Alcohol.....	40
7	Aldehído.....	41
8	Compuesto fenólico.....	41
9	Registro en MERF.....	55

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica N°		Pág
1	El rendimiento obtenido de los aceites esenciales de la especie <i>Brassica napus</i> L.....	63
2	Comparación de 3-butenil isotiocianato presente en los aceites esenciales de las diferentes partes de la especie <i>Brasica napus</i> L.....	65
3	Compuestos mayoritarios presentes en los aceites esenciales de <i>B. napus</i> L.....	67
4	Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas, flores y tallos de <i>B. napus</i> frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.....	72
5	Comparación de antibióticos y aceites esenciales de la especie <i>B. napus</i> L.....	74

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema N°		Pág
1	Pasos generales seguidos para la determinación de la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Brassica napus</i> L.....	59
2	Pasos seguidos para la determinación de la composición química del aceite esencial de <i>Brassica napus</i> L.....	60
3	Pasos seguidos para la determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de <i>Brassica napus</i> L.....	61

INTRODUCCIÓN

El uso de prácticas de salud complementarias es tan antiguo como la aparición de la especie humana, porque desde el principio de la civilización son parte de la atención familiar y comunitaria. Entre las utilizadas y difundidas a través de la cultura popular, las plantas medicinales siempre ocupan lugar destacado y durante mucho tiempo fue el principal recurso terapéutico utilizado para tratar la salud de las personas y sus familias (Badke, Budó, Alvin, Zanetti y Heisler, 2012). La medicina herbaria funciona más o menos de la misma manera que los fármacos convencionales, o sea, por su composición química. Las hierbas contienen muchísimos compuestos químicos que se dan por sí solos en la naturaleza y que tienen una fuerte actividad biológica. En los últimos 150 años, los químicos y farmacólogos se han dedicado a aislar y purificar los compuestos “activos” de las plantas en un intento para producir fármacos (Pascual, Pérez, Morales, Castellano y Gonzalez, 2014)

Por otra parte, desde la antigüedad el hombre ha utilizado como fuente para la elaboración de medicamentos cuya finalidad fue y ha sido controlar la prevalencia de ciertas enfermedades infecciosas, vencer los problemas de resistencia de los microorganismos y disminuir los efectos colaterales que poseen los antimicrobianos de síntesis química (Ali-Shyayeh, 1998). Asimismo, se han utilizado diversas técnicas microbiológicas para demostrar la actividad antimicrobiana de plantas superiores frente a microorganismos patógenos para el hombre (Rangel, García, Velasco, Buitrago y Velazco, 2001).

En relación a los aceites esenciales, estos han sido muy apreciados por sus propiedades medicinales como lo demuestran numerosos hallazgos de civilizaciones antiguas como Mesopotamia, China, India o el Antiguo Egipto (Djilani y Dicko, 2012). Entre el Antiguo y el Nuevo Testamento hay

más de 200 referencias al uso de aceites esenciales (mirra, gálbano, canela, casia, romero, hisopo o nardo), empleados generalmente en forma de ungüento, durante la celebración de rituales o para curar enfermos (Rao y Pandey, 2007)

En esta investigación se estudió los aceites esenciales de una especie de las montañas del páramo merideño de Venezuela, con propiedades medicinales y culinarias, utilizada con frecuencia por los habitantes de la zona como expectorante y también para dar sabor a sus comidas moliendo sus semillas, conocida localmente como “mostaza negra del páramo” o “saní”. Su nombre científico es *Brassica napus* L, y sus nombres comunes: canola (Canadá), colza (Italia), nabo (Venezuela), rape seed (USA, UK) (Vit, 2004)

Por tal motivo se realizó el estudio de la composición química del aceite esencial de diferentes partes de la especie *Brassica napus* L y su actividad antibacteriana, en cepas bacterianas de referencia internacional ATCC.

Éste trabajo está estructurado en cinco capítulos. El Capítulo I, denominado El Problema, contiene los siguientes elementos: Planteamiento del Problema, Justificación de la Investigación, Objetivos, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II, llamado Marco Teórico abarca: Trabajos Previos, Antecedentes Históricos, Antecedentes Teóricos, Definición Operacional, Operacionalización de las Variables, Hipótesis. El Capítulo III, titulado Marco Metodológico comprende: Tipo de Investigación, Diseño de Investigación, Población y Muestra, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y Diseño de Análisis. El Capítulo IV, titulado Resultados y Discusiones y por el último el Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del problema

El hecho de que las plantas tuviesen un poder curativo despertó en investigadores y científicos la curiosidad de estudiar esta peculiaridad para intereses farmacéuticos (Evans, 1991). Estas aportan una gran cantidad de compuestos químicos con carácter antimicrobiano, algunos de los cuales muestran actividad *in vitro* comparable a los utilizados en clínica (Domingo y López, 2003).

Por otro lado, la resistencia a los antimicrobianos supone la capacidad adquirida de un organismo para resistir los efectos de un agente quimioterapéutico al que es sensible habitualmente. Este problema tiende a incrementarse con el tiempo y el nivel de exposición al mismo, por ello, es necesario emplearlos de forma adecuada, lo que permitirá prolongar el tiempo de vida clínica de los mismos. No obstante, una de las soluciones para acabar con las resistencias se encuentra en nuestra capacidad para desarrollar nuevas alternativas de control de origen natural y dentro de ellos, los aceites esenciales tienen grandes potencialidades (Usano-Aleman, Paul y Díaz, 2014).

Por tal motivo la finalidad de este estudio, fue obtener el aceite esencial de una especie de la familia Brassicaceae, como lo es *Brassica napus* L, determinar los componentes volátiles de las hojas, flores y tallos y la evaluación como agente antibacteriano, una vez descrita la situación del

problema de estudio es posible delimitar el problema a través de la elaboración del siguiente enunciado holopráxico:

¿Cuál sería la relación entre la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de la planta *Brassica napus* L, en cepas bacterianas de referencia internacional ATCC?

Justificación de la Investigación

En la búsqueda constante de soluciones para las enfermedades ocasionadas por patógenos que afectan el organismo, el ser humano se ha visto envuelto en el uso indiscriminado de compuestos encargados de inhibir el desarrollo de microorganismos, algunos ejemplos son los derivados azólicos, betalactámicos, aminoglucósidos, fluoroquinolonas, entre otros; pero esta situación ha conllevado a dos problemáticas; que los compuestos presentan efectos secundarios como malestares leves, hasta toxicidad hepática; y el desarrollo de microorganismos tolerantes a la farmacocinética de dichos medicamentos, dificultando su tratamiento (Forbes, Sahm y Weissfeld, 2009).

Las enfermedades infecciosas han sido un desafío para la humanidad. A pesar de los avances en la ciencia, aún muchas infecciones no tienen tratamientos efectivos o los microorganismos han generado resistencia a los antibióticos, de manera que las plantas medicinales son una alternativa de tratamiento y reducción de la resistencia (Hernández, Pabón y Hernández, 2021).

Es por ello que se han llevado a cabo numerosas investigaciones con el objetivo principal de relacionar la composición química de los aceites esenciales con su actividad biológica y su posible aplicación como productos

naturales. Diversos estudios determinan que los aceites esenciales procedentes de clavo, canela, mostaza, orégano, romero y tomillo tienen actividad antimicrobiana (Deans y Ritchie, 1987)

Esta situación, así como la aparición de efectos indeseables de ciertos antibióticos, ha llevado a los científicos a investigar nuevas sustancias antimicrobianas a partir de plantas consideradas popularmente medicinales. Los ensayos realizados hasta este momento revelan que las plantas representan una potencial fuente de nuevos agentes antimicrobianos. (Cáceres, López, Gonzalez, Berger, Tada y Maki, 1998).

De acuerdo con lo mencionado, la justificación del presente estudio va relacionado con el análisis de la composición química del aceite esencial de las hojas, flores y tallos de *Brassica napus* L y la evaluación de sus componentes volátiles para demostrar su capacidad como agente antibacteriano y como terapia alternativa frente a bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) y Gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*), aportando conocimientos en el área científica, además de dejar abierta la posibilidad de un aprovechamiento de ésta especie para posteriores investigaciones o industria farmacéutica.

Objetivos de la investigación

Objetivo General

Determinar la composición química y la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Brassica napus* L, en cepas bacterianas de referencia internacional ATCC.

Objetivos específicos

- Obtener el aceite esencial de las hojas, flores y tallos de la especie *Brassica napus* L. mediante el método de hidrodestilación.
- Identificar los componentes químicos del aceite esencial de *Brassica napus* L., de los tallos, hojas y flores, mediante la Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas.
- Evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de las diferentes partes de la especie *Brassica napus* L en cepas bacterianas de referencia internacional, mediante el método difusión en agar (Kirby-Bauer)

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

El alcance de la investigación, es decir, la profundidad del logro obtenido de la investigación:

- Aportar nuevos datos importantes de la especie *Brassica napus* L, como lo son la composición química de los aceites esenciales de sus tallos, hojas y flores, debido a que esta planta solo se ha estudiado el aceite esencial de la semilla a nivel mundial. Sería la primera vez en Venezuela y el mundo que se hace este estudio de las tres partes de la planta y en simultáneo.
- Proporcionar nuevos datos de actividad antibacteriana de los aceites esenciales de *Brassica napus* L de los tallos, hojas y flores y los posibles componentes que la convierten en agente antibacteriano, ya que solo la semilla ha sido investigada en este ámbito, que podrían ser utilizados para la

fabricación de nuevos antibióticos como alternativa para eliminar enfermedades causadas por bacterias.

- Resaltar la importancia, la belleza y los beneficios de la especie *Brassica napus* L, dando a conocer de ésta planta del páramo sus propiedades medicinales, usos culinarios y ahora su potencial antibacteriano.

Limitaciones de la investigación

Para el desenvolvimiento de la investigación, se presentaron una serie de limitantes de diversos ámbitos que afectaron de una u otra forma el proceso de investigación, entre los cuales se mencionan:

- En la exploración del tema se observaron pocas investigaciones tanto a nivel nacional como internacional con respecto a la especie (*Brassica napus* L).
- La falta de insumos en el centro de investigación y la escasez de instrumentación por falta de presupuestos.
- La suspensión de actividades en la universidad, entre ellas la pandemia reciente, paralizando el proceso de investigación.
- El constante aumento exagerado de los precios de los materiales utilizados en general como el papel, impresiones, etc.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos previos

Jabbar, Chiman, Sazan, y Bahar, (2021), publicaron un trabajo titulado: Diferenciación química y potencial antimicrobiano de cuatro aceites esenciales de las semillas de *Brassica napus* L. El objetivo de la investigación fue el análisis y comparación del potencial fitoquímico y la actividad antimicrobiana de cuatro aceites esenciales de las semillas de cuatro variedades de la especie *Brassica napus* L. Las semillas de la planta fueron cultivadas y su crecimiento fue durante la temporada de invierno. Para el análisis del aceite esencial se empleó la cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM). Se aplicó el ensayo de microdilución en caldo para probar el potencial antimicrobiano, concentración inhibitoria mínima (CIM), concentración bactericida mínima (CBM) de los aceites esenciales extraídos contra diferentes cepas bacterianas. En los resultados obtenidos se encontraron un total de 56 compuestos, se obtuvo 23 y 25 compuestos en los aceites de las variedades de semillas Pactol y Rapifera, respectivamente, y 21 compuestos en cada uno de los aceites de semillas Bacara y Rally. El ácido oleico se obtuvo alrededor del (35,79 %), (15,62 %), (7 %) y (2,41 %) para los aceites de semillas Rally, Bacara, Rapifera y Pactol, respectivamente. Las bacterias Gram positivas, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus agalactiae*, mostraron menores potenciales de resistencia (CIM= 0,78%, 3,125% respectivamente) (CBM= 1,36%, 6,25% respectivamente) a los aceites esenciales en comparación con *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli* mostró mayor sensibilidad (6,25% y

12,5% para CIM y CBM respectivamente) que *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* a los aceites de semilla de *B. napus*. Las bacterias Gram positivas fueron más sensibles a los aceites esenciales probados que las bacterias Gram negativas. En general, cuatro variedades de semillas diferentes tienen sustancias químicas y ácidos grasos importantes. El ácido oleico fue el ácido graso más común y el 2,4-decadienal con el hexanal fueron los aldehídos más frecuentes en los cuatro aceites de semillas. Los aceites esenciales de semillas de *B. napus* analizados mostraron actividades antimicrobianas contra varias bacterias Gram positivas y Gram negativas y *Candida albicans*, y los aceites de semillas de *Pactol* ejercieron la mayor actividad. La relación de este estudio con la presente investigación, fue que en ambos utilizaron el método Cromatografía de Gases-Espectrometría de Masas para la determinación de sus compuestos químicos y estudiaron la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de la especie *B. napus* frente a varias cepas bacterianas.

De igual manera, Turgumbayeva, Tileuberdi, Zhakipbekov, Tulemissov, Umurzakhova, y Utegenova, (2021). Presentaron un trabajo titulado: Eficacias antimicrobianas de aceites esenciales/ nanopartículas de *Brassica napus* L. Se formularon películas del aceite esencial a base de polilactida (PLA) incorporando polietilenglicol, nanopolvo (óxido de zinc) por el método de fundición o colada con solvente. Las películas se probaron contra patógenos para determinar su actividad antibacteriana. El aceite de *Brassica napus* se obtuvo a partir de la extracción con fluido supercrítico usando dióxido de carbono presurizado como solvente. La composición del aceite esencial se analizó mediante cromatografía de gases (GC) y cromatografía de gases-espectrofotometría de masas (CG-EM). Se identificaron 39 compuestos en el aceite. La eficacia de la película basada en nanomateriales de aceite seleccionados se probó mediante la realización de las pruebas. Las eficacias antibacterianas *in vitro* de los nanopolvos/aceite

esencial se determinaron mediante las concentraciones de reducción decimal y las concentraciones bactericidas mínimas para los patógenos. Los principales compuestos del aceite fueron 1,3,6,10-ciclotetradecatetraeno, 3,7,11-trimetil-14-(1-metiletilo) (30,07%), ciclo-hexanona,5-metil-2-(1-metiletilideno) (12,91%), 3,4-metilendioxiopropiofenona (9,67%), ácido hexadecanoico, éster etílico (8,28 %), octacosanol (5,50%), 11,15-tetrametilhexadeca-1.,3,6,10,14-pentaeno (4,55%) y 1,6,10,14-hexadecatetraen-3-ol, 3,7,11,15-tetrametil (3,14 %). El estudio indicó que los aceites esenciales basados en nanomateriales eran efectivos contra los microorganismos probados. Las películas a base de PLA formuladas con el aceite mostraron una excelente eficacia antibacteriana contra patógenos Gram positivos y Gram negativos. La relación de éste estudio con la presente investigación fue que en ambas se analizó la composición química de los aceites esenciales mediante Cromatografía Gases-Espectrometría de masas y comprobaron la actividad antibacteriana de la especie *B. napus* L.

Por otra parte, Wieczorek y Jeleń, (2019), presentaron un trabajo titulado: Compuestos volátiles de vegetales crudos y cocidos seleccionados de *Brassica*. El objetivo fue analizar la composición volátil de 15 cultivares de *Brassica* (cinco coles de Bruselas, cuatro colinabos, tres coliflores y tres brócolis), tanto crudos como cocidos. Esto se realizó mediante microextracción en fase sólida y cromatografía de gases bidimensional integral con espectrometría de masas de tiempo de vuelo SPME-GC×GC-ToFMS). Se encontraron diferencias entre los vegetales analizados; además, se evaluó la influencia de la cocción en la composición de compuestos volátiles. Todos los vegetales se congelaron antes de los análisis, por lo que se incluyó el impacto de este proceso en los compuestos orgánicos volátiles. Los grupos de compuestos más abundantes fueron los componentes de azufre (incluidos los isotiocianatos bioactivos), los nitrilos, los aldehídos y los alcoholes. La cocción en general provocó una disminución en la abundancia

de los principales volátiles. Sin embargo, la cantidad de isotiocianatos bioactivos aumentó en la mayoría de los cultivares después de la cocción. El efecto de la congelación sobre la fracción volátil se presentó con base en los cultivares de coles de Bruselas. La mayoría de los cambios estaban estrechamente relacionados con la actividad de las enzimas de la ruta de la lipoxigenasa (LOX), además, se observaron cambios importantes en las concentraciones de componentes bioactivos, por ejemplo, los isotiocianatos. Se relaciona con esta investigación, por el estudio de los aceites esenciales de varias especies del género *Brassica* (15) y la determinación de sus componentes volátiles con predominio de los isotiocianatos.

Por otro lado, Bassan, Bhushan, Kaur, Arora, Arora, y Vig, (2018). Presentaron un trabajo titulado: Extracción, perfil y análisis de bioactividad de glucosinolatos volátiles presentes en el aceite esencial extraído de *Brassica juncea* var. *raya*. Con el objetivo de corroborar que los vegetales de crucíferas son una rica fuente de glucosinolatos (GSL) y que la presencia de la enzima mirosinasa provoca la escisión hidrolítica, se observaron los diferentes productos hidrolíticos como isotiocianatos, tiocianatos, nitrilos y epinitrilos. Los productos hidrolíticos de GSL son compuestos volátiles, que se sabe que exhiben bioactividades como antioxidantes, fungicidas, bioherbicidas y anticancerígenos. *Brassica juncea* es muy conocida por su alto contenido de glucosinolatos. El presente estudio del aceite esencial de *B. juncea* var. *raya* se realizó por el método de hidrodestilación usando un aparato Clevenger y luego los extractos se obtuvieron con los solventes acetato de etilo y diclorometano. Los compuestos volátiles presentes en el aceite se analizaron mediante cromatografía de gases/cromatografía de gases-espectrometría de masas, identificándose ésteres de ácidos grasos, compuestos de azufre y/o nitrógeno, compuestos de carbonilo y algunos otros compuestos volátiles. Los extractos se analizaron en cuanto a sus bioactividades, incluida la actividad de eliminación de radicales mediante el

ensayo de corte de ADN y el efecto citotóxico utilizando diferentes líneas celulares de cáncer humano, mama (MCF-7 y MDA-MB-231), próstata (PC-3), pulmón (A-549), cuello uterino (HeLa) y colon (HCT116) mediante ensayo MTT. Los aceites fueron capaces de reducir eficientemente el aumento de células cancerosas de manera dependiente de la dosis. Entre todas las líneas celulares, la actividad anticancerígena más eficaz se observó en el caso de la línea celular de cáncer de mama (MCF-7). Por lo tanto, las células MCF-7 se utilizaron para estudios mecánicos adicionales para analizar el mecanismo de la actividad anticancerígena. El presente estudio indica que el aceite *B. juncea*, var. *raya* induce significativamente la apoptosis en todas las líneas de células cancerosas mencionadas anteriormente a través de una vía mitocondrial mediada por ROS y, por lo tanto, desempeñan un papel notable en la muerte de las células cancerosas. Se relaciona con esta investigación, ya que se estudió el aceite esencial de una especie del género *Brassica* evaluando el comportamiento del aceite a través de sus componentes volátiles y observando su bioactividad; además para la extracción utilizaron el método de hidrodestilación y los componentes se determinaron por cromatografía gases-espectrometría de masas al igual que el presente trabajo.

Antecedentes históricos

Existen registros de la antigua literatura india, china, griega y romana que datan de hasta 5000 años antes del presente, donde se menciona a los cultivos de *Brassica*, que fueron inicialmente domesticados por su uso hortícola y más tarde como cultivos productores de aceite comestible (Prakash, Wu y Bhat, 2012). Tienen una distribución cosmopolita y algunas especies han sido cultivadas desde tiempo prehistórico (Judd, Campbell, Kellogg, Stevens y Donoghue, 1999).

Los aceites esenciales, resinas, extractos y especies son conocidas y utilizadas desde la antigüedad en gran número de aplicaciones perfumes, ambientadores, cosméticos y medicina. Existen referencias en manuscritos egipcios, chinos y hay alrededor de 200 citas en la biblia relacionados con esas sustancias (Ortuño, 2006).

Su uso en Egipto se remonta a la época de los faraones. Se han encontrado en tumbas egipcias vasijas de alabastro que datan de 2000 y 3000 años antes de Cristo, algunas de ellas contenían ungüentos aromáticos en perfecto estado de conservación. En la tumba de Tutankamon (en 1922) se hallaron vasijas y potes que contenían un ungüento hecho con incienso y una base de grasa animal. Asimismo, se han hallado documentos escritos en tablas de arcilla que demuestran que Egipto importaba madera de cedro y de ciprés, lo cual confirma que desde la antigüedad ya existía un comercio internacional (García, 2008).

Aceite esencial fue un término utilizado por primera vez en el siglo XVI por Paracelso (famoso médico y farmacéutico) quien lo utilizó como medicamento y los considero como la quinta esencia (Ortuño 2006).

Los datos experimentales de los métodos empleados en los tiempos antiguos, son escasos y vagos. Aparentemente, solo el de trementina fue obtenido por los métodos conocidos actualmente, aunque se desconoce con exactitud con cual método se extrajo (Rodríguez, Alcaraz y Real, 2012).

Hasta la Edad Media, el arte de la hidrodestilación fue usado para la preparación de aguas florales. Cuando se obtenían en la superficie del agua floral, era desechado comúnmente, por considerarlo un sub-producto indeseado. La primera descripción auténtica de la hidrodestilación real ha sido realizada por (Arnold de Villanova 1235- 1311), quien introdujo “el arte de este proceso” en la terapia europea (Rodríguez y cols, 2012)

Durante la época de las cruzadas, los cirujanos barberos europeos trabajaban junto con los médicos árabes, de quienes aprendieron la importancia de la higiene y la utilidad de los aceites. Los caballeros que regresaban de las cruzadas trajeron a Europa las plantas y los óleos, junto con los conocimientos del proceso de destilación por corriente de vapor (método de extracción descubierto por Avicena, el médico árabe más importante de la antigüedad). Posteriormente, los perfumistas europeos comenzaron a experimentar con plantas locales (García, 2008).

Se puede decir que la historia de los aceites esenciales en occidente empieza a partir de la experiencia de René-Maurice Gattefossé (perfumista francés), quien en 1910 tras sufrir quemaduras por una explosión en su laboratorio, utilizó como primeros auxilios el frasco de lavanda, pudo constatar (al bañarse literalmente sus manos con ese aceite) que no tuvo lesiones, se detuvo la irritación y no aparecieron vejigas en su piel (Sánchez, 2016).

Con posterioridad, Jean Valnet describió el profundo efecto de las esencias en su tratado de aromaterapia. Así, este mundo de los olores ha creado para la medicina toda una disciplina basada, sobre todo, en las esencias de las plantas, en su olor y en las características de sus aceites esenciales (Saz y Ortiz, 2007)

Por otra parte, el descubrimiento de los antibióticos revolucionó la medicina y la calidad de vida de las personas, no obstante, la creciente resistencia microbiana a dichos antibióticos alarma los sistemas de salud, tanto humano como animal, a nivel mundial, esto debido a la creciente dificultad para tratar infecciones y al lento desarrollo de nuevas drogas, adicional el uso de antibióticos como promotores de crecimiento y salud en la alimentación animal, contribuyen al aumento en la resistencia, por lo que, se ha visto necesario recurrir a otras opciones, siendo los remedios antiguos,

basados en plantas, la mejor opción (Boire, Riedel y Parrish, 2013; Granados-Chinchilla, 2017).

La actividad antimicrobiana de los aceites de pimienta negra, clavo, orégano, geranio, nuez moscada y tomillo fue examinada por (Dorman y Deans, 2000), quienes además determinaron los componentes volátiles que podrían contribuir a su actividad. El aceite con un gran espectro de acción fue el de tomillo, seguido de orégano, clavo, nuez moscada, pimienta negra y geranio. La actividad de los mismos estaría relacionada con la composición de los volátiles de los aceites de las plantas y sus grupos funcionales, y una posible interacción sinérgica entre sus componentes. Los componentes con estructura fenólica como el carvacrol, el eugenol y el timol, fueron muy efectivos frente a los microorganismos. En este sentido, Fisher y Phillips (2006) estudiaron la actividad antimicrobiana de los de limón, naranja dulce y bergamota y de sus componentes principales (Dorman y Deans, 2000).

La actividad antibacteriana en general, depende de diversos factores entre los que destacan, las temporadas de cosecha, las fuentes geográficas, el método de extracción, la variedad, la estructura química de los componentes y su concentración, el tiempo y las condiciones en que se encuentre almacenado, influyen debido a que este es muy sensible a la luz y a las altas temperaturas por lo que dichos factores pueden intervenir en el poder inhibitorio del aceite (Consentino, Tuberoso, Pisano, Satta, Mascia, Arzedi y Palmas, 1999).

En la actividad antibacteriana el *S. aureus* ha sido en gran medida una bacteria estudiada con predilección por la necesidad que habita en los investigadores y la parte médica de hallar nuevas formas terapéuticas frente a este microorganismo que ha venido modificando su comportamiento frente a los 30 antibióticos usados para su control y eliminación, por otro lado el *B. cereus* es una bacteria que frente a diversas plantas ha mostrado mayor

sensibilidad en diferentes estudios, es el caso de los extractos de la Goiaba (Drassar, 1974)

Bases Teóricas

Familia Brassicaceae

Las Brasicáceas (Brassicaceae), antiguamente conocidas como crucíferas, son una familia vegetal que comprenden numerosos cultivos industriales y comestibles de gran importancia económica, plantas ornamentales, y especies modelo (Warwick, 2011).

Características botánicas de la familia Brassicaceae:

- Porte: hierbas anuales o perennes, rara vez arbustos.
- Hojas: alternas, raro opuestas, simples o a menudo pinnadas.
- Flores: en racimos o solitarias, perfectas, actinomorfas o algunas veces zigomorfas, hipóginas, receptáculos a menudo con nectarios y, generalmente, prolongado en un ginóforo o androginóforo.
- Perianto: cáliz, 4 sépalos; 4 pétalos; en disposición en cruz.
- Gineceo: ovario súpero, carpelos, 2 soldados, dividido en dos cámaras por falso tabique placentario, óvulos, $1-\infty$, con o sin estilo, estigma capitado o bilobulado (Cabral, Casco, López, Miguel, Cabaña, Ferber, Queiroz, Martín, Salas y Cian, 2010)

Distribución de la familia Brassicaceae

Se distribuyen en regiones templadas de los hemisferios Norte y Sur, la mayor concentración aparece en la región mediterránea y Asia Central. Está constituida por 338 géneros y 3710 especies (Stevens, 2009).

En la tabla 1, se puede observar la taxonomía de la familia Brassicaceae

Tabla 1. Clasificación taxonomía de la Familia Brassicaceae.

Reino	<u>Plantae</u> – plantas, Planta, Vegetal, plantas
Subreino	<u>Viridiplantae</u> – plantas verdes
Infrareino	<u>Streptophyta</u> – plantas de tierra
Superdivisión	<u>Embryophyta</u>
División	<u>Tracheophyta</u> – plantas vasculares, traqueofitas
Subdivisión	<u>Spermatophytina</u> – espermatofitos, plantas con semillas, fanerógamas
Clase	<u>Magnoliopsida</u>
Superorden	<u>Rosanae</u>
Orden	<u>Brassicales</u>
Familia	Brassicaceae – mostazas, moutardes, crucíferas

Fuente: ITSS, 2014

Composición química de la familia Brassicaceae

Las Brasicáceas son reconocidas como una rica fuente de nutrientes como vitaminas (carotenoides, tocoferoles, ácido ascórbico, ácido fólico), minerales (Cu, Zn, P, Mg, entre otros), carbohidratos (sacarosa y glucosa), aminoácidos (por ejemplo, L-alanina, ácido L-aspártico, ácido L-glutámico, L-glutamina, L-histidina, L-metionina, L-fenilalanina, L-treonina, L-triptófano y L-valina) y diferentes grupos de fitoquímicos como indol, fitoalexinas (brassinina, espirobrassinina, brasilexina, camalexina, 1-metoxiespirobrassinina, 1-metoxiespirobrassinol y metoxiespirobrassinol metil éter), fenoles (como feruloil e isoferuloilcolina, hidroxibenzoico, neoclorogénico, clorogénico, cafeico, p-cumárico, ferúlico, y ácidos sinápicos, antocianinas, quercetina y kaempferol), y glucosinolatos (principalmente glucoiberina, glucorafanina, glucoalisina, gluconapina, glucobrassicinapina, glucobrassicina, gluconasturtiina y neoglucobrassicina) (Jahangir, Kim,Choi y Verpoorte, 2009).

Usos de la familia Brassicaceae

Las especies de la familia Brassicaceae son usadas como condimentos, entre las que se pueden mencionar *Brassica napus* L. (nabo) y *B. campestris* L, sus semillas proporcionan aceites que se comercializan con

el nombre de aceites de nabo o de colza. *Raphanus sativus* L. (rábano), es una hierba anual o bienal, presenta raíces carnosas comestibles, con sabor picante. Suele consumirse crudo o cocido. *Sinapis alba* L. (mostaza blanca), es una hierba anual, con semillas pequeñas que además de otras sustancias, presenta un glucósido llamado sinalbina. *Brassica nigra* (L.) Koch (mostaza negra), sus semillas contienen un glucósido llamado nigrina, que por descomposición da un aceite volátil sulfurado, que le da un sabor picante y *Capparis spinosa* L. (alcaparras), se consumen los botones florales (Cabral y cols, 2010).

Actividad Biológica de la familia Brassicaceae

Esta familia comprende numerosas especies que poseen abundantes efectos saludables para el ser humano y, especialmente, al género *Brassica* se le reconocen importantes efectos beneficiosos para la salud debido a su alto contenido en fibra, vitamina A, vitamina C y efectos antioxidantes (Abilleira, Carrea y Velasco, 2008). La familia Brassicaceae contiene vitaminas, catalasa, superóxido dismutasa y peroxidasa por lo que estas verduras son una fuente importante de actividad antioxidante (Ching, 2007).

Género *Brassica*

El género *Brassica* pertenece a la familia Brassicaceae (=Cruciferae) y abarca un gran número de especies distribuidas por todo el mundo debido a su capacidad de adaptación a un amplio rango de condiciones climáticas. Desde el punto de vista económico este género es el más importante de la familia porque a él pertenecen las que son cultivadas como hortalizas, condimentos, oleaginosas y forrajes. Entre todas las plantas que integran este género la importancia económica se centra de manera casi exclusiva en seis, tres diploides y tres anfidiplóides (Gómez-Campo y Prakash, 1999).

Origen del género *Brassica*

El centro de origen de las distintas especies de *Brassica* es bastante incierto, se cree que *Brassica oleracea* se originó en la región mediterránea, *B. napus* en el sudeste de Europa y *B. rapa* en un área muy extensa que abarca el oeste de Europa, hasta el este de China y Corea. En cuanto a *B. juncea*, se encuentra en Medio Oriente y *B. carinata* proviene del noreste de África, pero ninguna es nativa de América. Si bien sus orígenes parecen ser diferentes, existen pruebas que todas éstas provienen de un progenitor común con un número básico de cromosomas $n=6$, a partir del cual surgieron las especies diploides *B. nigra*, *B. rapa* y *B. oleracea*. Producto de su hibridación y posterior poliploidización las diploides dieron comienzo a tres anfiploides: *B. napus*, *B. carinata* y *B. juncea* (Iriarte y Valetti, 2008).

Distribución del género *Brassica*

La mayoría de las especies de éste género crecen en climas mediterráneos, templados y fríos (Dixon, 2006). Se caracterizan por presentar los siguientes aspectos botánicos:

Plantas herbáceas anuales, bianuales o perennes, a veces subarborescentes con un líquido pungente rico en glucosinolatos; indumento ausente, de pelos simples, dendríticos, ramificados o rara vez de vesículas; hojas alternas (rara vez opuestas), con frecuencia las inferiores dispuestas en roseta basal, sin estípulas, simples a pinnati-lobadas o pinnadas; inflorescencia terminal o en pocas ocasiones axilar, usualmente racemosa, por lo general sin brácteas; flores actinomorfas o algo zigomórficas, hipóginas, perfectas a rara vez unisexuales; sépalos 4, libres, dispuestos en dos pares decusados, generalmente deciduos, el par interior muchas veces sacciforme en la base; pétalos 4, raramente ausentes o diminutos, libres, alternando con los sépalos y formando una cruz, enteros o emarginados, rara vez fimbriados, unguiculados; estambres seis o en ocasiones menos, por lo

general tetradínamos, los dos externos solitarios y más cortos que los 4 internos, que se disponen en dos pares, a veces todos iguales de tamaño o en tres pares de tamaños desiguales; gineceo sincárpico de dos carpelos, el ovario súpero, sésil o estipitado, 2-locular y con un falso septo que conecta las placentas, estilos persistentes, evidentes u obsoletos, estigma discoide o capitado, entero o bilobulado; fruto en forma de silicua (cápsula bivalvada dehiscente de la base al ápice, rara vez indehiscente), desde muy alargada hasta corta y casi como una nuez, el repleo persistente, el septo completo pero a veces perforado o ausente; semillas sin endospermo, con o sin alas, de diversas formas, desde aplanadas hasta globosas, uni o biseriadas en cada valva; embrión ocupando toda la semilla, generalmente curvo y entero, acumbente o incumbente (Martínez y Hernández, 2013). En la tabla 2, se mencionan los nombres comunes, con sus respectivos nombres científicos de algunas especies pertenecientes al género *Brassica*.

Composición química del género *Brassica*

Los glucosinolatos se localizan en las plantas crucíferas, entre ellas la colza, en vacuolas separadas físicamente de las enzimas citoplasmáticas denominados mirosinasas (tioglucosidasas) que las pueden hidrolizar en la misma planta. Estas enzimas se producen por las plantas e interaccionan con los glucosinolatos, cuando el tejido de la planta pierde su integridad. Los productos resultantes de la hidrólisis de los glucosinolatos son glucosa, bisulfato y uno de los derivados siguientes: isotiocianatos, tiocianatos, nitrilos, o compuestos relacionados, tales como oxazolidina-2-tionas (Borgen, Thangstad, Ahuja, Trevor y Magnar, 2010).

Tabla 2. Nombres de algunas especies del género *Brassica*.

Nombre común	Nombre científico	Parte usada de la planta
Mostaza	<i>Brassica juncea</i>	Hojas, tallos y semillas
Nabo, canola, colza	<i>Brassica napus</i>	Hojas y semillas
Rutabaga, Colinabo, Nabi col, Nabo suizo, Nabo sueco, Nabo blanco	<i>Brassica napus var. napo brassica</i>	Raíz, hoja
Colza, rapa o canola	<i>Brassica napus var. napus</i>	Hoja, tallo de flores
Col rizada, Berza, Coles verdes	<i>Brassica oleracea var. acephala</i>	Hoja
Coliflor	<i>Brassica oleracea var. botrytis</i>	Tallo de flores
Repollo	<i>Brassica oleracea var. capitata</i>	Hoja
Col rizada, Col de pezón grueso o Col tronchuda	<i>Brassica oleracea var. costata</i>	Hoja e inflorescencia
Col de Bruselas	<i>Brassica oleracea var. gemmifera</i>	Yema axilar
Colirrábano, Col rábano, o Colinabo	<i>Brassica oleracea var. gongylodes</i>	Tallo agrandado
Brócoli	<i>Brassica oleracea var. italica</i>	Tallo de flores
Komatsuna, Espinaca japonesa	<i>Brassica rapa var. komat suma</i>	Hoja
Nabo	<i>Brassica rapa var. rapa</i>	Raíz agrandada

Adaptado de: Guerenam, 2020

En la tabla 3, se puede observar la composición química presente en algunos aceites esenciales en diferentes especies pertenecientes al género *Brassica* en diversas partes del mundo.

En la figura 1, se presentan ejemplos de las estructuras de algunos componentes presentes en el género *Brassica*: isotiocianato de alilo (NITS, 2022), octasulfuro (NITS, 2022), *Cis, cis-9-12-octanodecadienoico* (NITS, 2022),

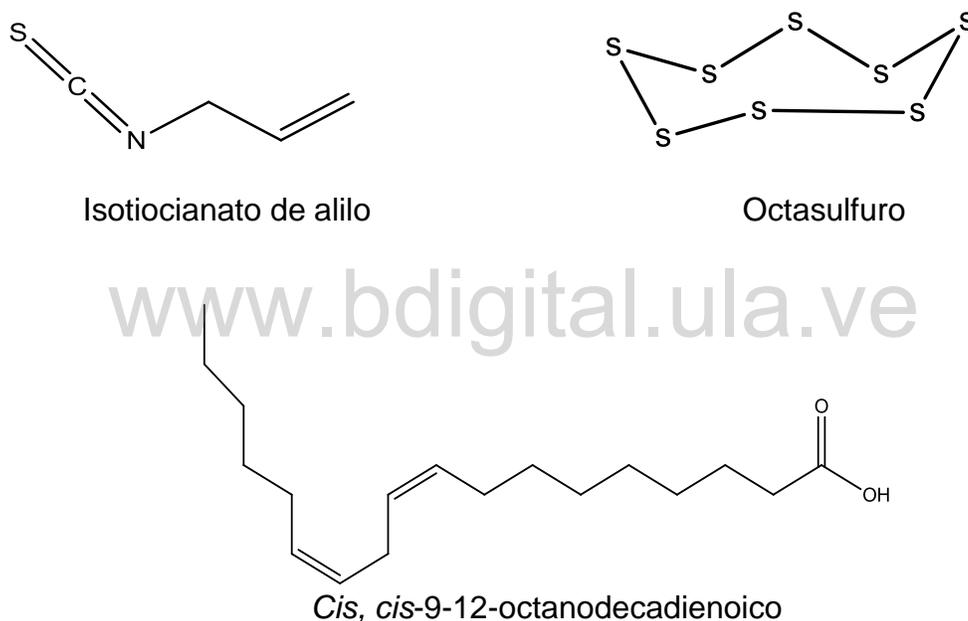


Figura 1. Estructura de algunos compuestos químicos presentes en el género *Brassica*

Tabla 3. Composición química de algunos aceites esenciales de *Brassica*.

Especie	Compuestos	Parte usada	Localidad	Referencia
<i>Brassica campestris</i>	Cis-9-12-15-octanodécenoico (55%) Cis, cis-9-12-octanodécenoico (22%) Cis-9-12-15-octadecatrienoico (13%), n-hexadécenoico (3%), Cis-13-docosenoico (0,5%) Cis-15-tetracosenoico (0,5%).	Semilla	Finlandia	Kallio y cols (1991)
<i>Brassica juncea</i> L	isotiocianato de alilo (54,8 - 68,8%), 3-butenilo isotiocianato (4,8 – 5,9%) e isotiocianato de fenilo (2,4 - 3,4%), (14,8 - 23,4%). Trisulfuro de dialilo (7,8 - 9,7 %), sulfuro de dialilo (3,2 - 5,5 %) y disulfuro de dialilo (2,7 - 4,1 %)	Semilla	China	Yu y cols (2003)
<i>Brassica rapa</i> L. var. <i>perviridis</i> Bailey	isotiocianato de 3-butenilo (1,4-29,2 %), isotiocianato de 4-pentenilo (8,2-23,5 %), 5-hexenonitrilo de 2-metilo (1,3-16,8 %), isotiocianato de 2-feniletilo (7,0-13,7 %) y fitol. (6,1-23,5%).	Hojas	Japón	Miyazawa y cols (2004)
<i>Brassica hirta</i>	4-hidroxi-bencenoacetónitrilo (29,63 %), ácido palmítico (14,55 %), ácido linoleico y ácido oleico (9,67 %). el heptanal, el alcohol fenilético, el (2E)-octenal y el (2E, 4E)-dodecadienal	Semilla	Japón	Miyazawa y Kawata (2006).
<i>Brassica juncea</i> (L.) Coss	Isotiocianato de alilo (43,8%) Isotiocianato de 3-metiltiopropilo (9.4%) Isotiocianato de 3-butenilo (4,8%), Isotiocianato de butilo (4,7%) Isotiocianato de fenilo (3,7%) 2-feniletilo isotiocianato (3.7%).	Semilla	China	Zi-Tao y cols (1999)
<i>Brassica tournefortii</i>	Octasulfuro (27,80%) y 3-(metiltio)propilo isotiocianato (25,19%).	Semilla	Egipto	Shabana y cols (2013)

Tabla 12. (continuación)

<i>Brassica rapa</i> var. Mei Qing Choi	(Z)-3-hexen-1-ol, acetato de octilo, 1-nonanol, 2-decanona, 1-penten-3-ol, linalol, alcanfor, mentol, acetato de isobornilo, geranilacetona y cedrol. (Z)-3-hexenal, 2-hexin-1-ol y (E)-2-hexenal	Planta	USA	Talavera-Bianchi y cols (2010)
<i>Brassica fruticulosa</i> y <i>Brassica incana</i>	Alcoholes, aldehídos, ésteres, ácidos, cetonas, terpenos, C13-norisoprenoides y compuestos de azufrados, isotiocianato de 3-butenilo	Hojas	Italia	Tripodi y cols (2012)

Elaborado por: (López, 2023)

Usos del género *Brassica*

En el género hay varias especies de importancia económica por ser comestibles como la col, el brocolí, coliflor, mostaza, colza, también se extraen aceites a partir de las semillas. Debido a que son plantas cultivadas existe una amplia variación en las estructuras morfológicas por lo que se han reconocido numerosas especies y variedades; actualmente muchas de ellas se consideran sinónimos (García, 2021).

Entre los efectos beneficiosos, cabe destacar el gran interés que viene despertando en la comunidad científica el estudio de la relación entre el contenido en glucosinolatos y su posible efecto anticancerígeno. Además, es importante destacar su papel como mecanismo de defensa frente a diversas plagas y enfermedades (Rosa, Heaney, Fenwick y Portas, 1997).

Actividad biológica del género *Brassica*

Muchas investigaciones han resaltado el importante potencial de los vegetales pertenecientes al género *Brassica*, debido a sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias y antibacterianas; la col tiene un uso relacionado con el tratamiento de síntomas asociados con patologías gastrointestinales (gastritis, úlceras pépticas y duodenales, síndrome del

intestino irritable); asimismo, en heridas (cortadas menores) y mastitis (Sudharameshwari y Ayshwawrya, 2017).

Especies de *Brassica* se ha encontrado que posee una amplia gama de propiedades biológicas que incluyen antioxidantes, anticancerígenos, antimicrobianos, actividades antiinflamatorias, antidiabéticas y neuroprotectoras, también antiviral y para el sistema de respuesta inmunitaria innato estos vegetales actúan como un potente modulador (Ayadi, Debouba, Rahmani y Bouajila, 2022); (Chauhan, Tiwari y Singh, 2016)

Especie *Brassica napus* L

La canola (*Brassica napus* L.) es una especie oleaginosa que pertenece a la familia Brassicaceae y es comúnmente conocida como colza, nabo o rape. Es un cultivo que se siembra en muchas partes del mundo y se utiliza para la producción de aceite, pasta, miel y forraje. La canola tiene una amplia adaptación climática, su temperatura óptima es de 20 °C y responde a los climas templados fríos. Aunque en estado vegetativo puede soportar hasta -4,5 °C, las temperaturas cercanas a los 0 °C causan daño a los órganos florales. Los requerimientos hídricos para el ciclo completo son de 450 mm, pero alrededor del 50 % es indispensable durante el periodo de floración al llenado de grano (Ruiz, Medina, González, Flores, Ramírez, Ortíz, Byerly y Martínez, 2013).

Origen de la especie *Brassica napus* L

El cultivo de colza (*Brassica napus* L.) tiene una larga tradición en países de Asia y norte de Europa, siendo China, India, Alemania y Francia los principales países productores. En América, tuvo gran desarrollo particularmente en Canadá, siendo el principal exportador mundial de colza (Gómez, Miralles, Mantese, Menéndez y Rondanini, 2018).

Características botánicas de la especie *Brassica napus*

Hábito y forma de vida: Hierba anual o bienal, glauca, glabra o pubescente con tricomas toscos. Tamaño: Hasta de 1,5 m de alto. Tallo: ramificado, sobre todo en la parte superior, glauco, erecto, frondoso. Hojas basales: Frecuentemente en roseta; pecíolo de 15 cm de largo, a menudo alado; lámina liradopinnada, glabrescente o raramente pubescente, de 5 a 40 cm de largo por 20 a 100 mm de ancho, lóbulos de 0 a 6, el terminal más grande que los demás, glabra o esparcidamente pubescente; margen irregularmente dentado o crenado. Hojas del tallo: Medianas y superiores sin pecíolo; lámina auriculada o semiamplexicaule, entera, sésil; margen entero o con algunos pocos dientes. Racimo no ramificado, botones que sobrepasan o igualan las flores abiertas. Flores: Sépalos de 6 a 10 mm de largo por 1,5 a 2,5 mm de ancho; pétalos color crema a amarillo, ampliamente obovados, de 10 a 16 mm de largo por 6 a 9 mm de ancho, uña de 5 a 9 mm de largo, ápice redondeado; estambres con filamentos de 7 a 10 mm de largo, antera de 1,5 a 2,5 mm de largo. Frutos: Pedicelos extendidos a ascendentes, delgados, de 1 a 3 cm de largo; silicua extendida a ascendente, lisa o ligeramente torulosa, cilíndrica; tamaño de 5 a 10 cm de largo por 3,5 a 5 mm de ancho; ápice con un pico cónico de 9 a 16 mm de largo, generalmente sin semillas. Semillas: Son 20 por lóculo, de color marrón oscuro a negro, marrón claro o rojizo, de 1,8 a 2,7 mm de diámetro, testa finamente reticulada-alveolada, no mucilaginoso cuando se humedece. Raíz: Pivotante (Al-Shehbaz, 2010).

Distribución de la especie *Brassica napus* L

Su centro de origen es incierto, pero probablemente fue Europa mediterránea; no se conocen formas realmente silvestres. Está distribuida en las regiones templadas de Eurasia. Se encuentra esporádicamente en lugares con clima templado en Norte América: Alaska, E.U.A, introducida

también en México; además, América Central, América del Sur, Islas del Atlántico, Australia (Al-Shehbaz, 2010). En la tabla 4 se puede observar la taxonomía de la especie *Brassica napus* L.

Tabla 4. Clasificación taxonómica de la especie *Brassica napus* L

Familia	<i>Brassicaceae</i> – mostazas, moutardes, crucíferas
Género	<i>Brassica</i> L. - mostaza
Especie	<i>Brassica napus</i> L. - nabo, colza

Fuente: ITIS, 2014

Composición química de la especie *Brassica napus* L

En lo que se ha leído en la literatura de trabajos previos, como se observó anteriormente, se ha determinado la presencia de compuestos químicos como isotiocianatos, alcoholes, compuestos con nitrógeno, cianuro, benceno entre otros. En la tabla 5 se observan la variedad de compuestos químicos presentes en la especie *Brassica napus* L.

Usos de la especie *Brassica napus* L

El nabo (*Brassica napus* L.) es una hortaliza de la familia Brassicaceae, utilizada para la alimentación humana, posee propiedades medicinales y al igual que otras especies de esta familia, como la Col y el Berro, contienen compuestos de azufre que son considerados potentes antioxidantes que ayudan a prevenir enfermedades (Bhandari y Kwak, 2015).

Las hojas del nabo son muy nutritivas por su alto contenido de vitaminas y minerales; contienen casi el doble de proteínas y de fibra, y

cantidades superiores de calcio, provitamina A o beta-caroteno, vitamina C y folatos, en comparación con la raíz (Reardon, 2007).

Esta especie conforma el tercer cultivo en importancia para producción de aceite vegetal, solo detrás de la soja y la palma que, a pesar de tener una menor producción, se dedica casi exclusivamente a la obtención de aceite (Cardoza y Stewart, 2003). La cocción de sus hojas en agua se utiliza en medicina tradicional como expectorante. Se han reportado alérgenos del tipo profilina presentes en el polen (Focke, Hemmer, Valenta, Gotz y Jarish, 2003)

Tabla 5. Composición química de la especie *Brassica napus* L.

Especie	Composición química	Parte usada	Lugar de la planta	Referencia
<i>Brassica napus</i> L	1-buteno 4-isotiocianato (4,8%) ; biciclohept-6-en-1-il-terc-butil éter (13,7%) ; 4 trifluoroacetoxitetradecano (1,1%); etil 4-bromo -3-fenilbut-2-enoato (9.8%); 1, 3, 6, 10 cyclotetradecatetraeno 3, 7, 11-trimetil-14- (1-metiletil) (5,2%); 2-fenil etilisotiocianato (39.2%); 2- (Aliltio) 1-nitrobutano (12,8%); ciclohexano 1, 12 - [1- (2, 2-dimetilbutil);-1,3-propanodii] bis (1,2%)	Semillas	Korea	Park y cols (2012)
<i>Brassica napus</i> L	1,3,6,10-ciclotetradecatetraeno, 3,7,11-trimetil-14- (1-metiletilo) - 30,07 %, ciclohexanona, 5 - metil-2- (1-metiletilideno) - 12,91 %, 3,4-Metilendioxiopropiofenona - 9,67 %, Ácido hexadecanoico, éster etílico - 8,28 %, Octacosanol - 5,50 %, 11,15-Tetrametilhexadeca-1.,3,6,10,14-pentaeno - 4,55% y 1,6,10,14-Hexadecatetraen-3-ol, 3,7,11,15-tetrametil – 3,14 %.	Semillas	Kazajistán	Turgumbayeva y cols (2021).

Metabolitos secundarios

Las plantas son organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes, colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales (García, 2009).

El metabolismo secundario se puede definir como la biosíntesis, la transformación y la degradación de los compuestos endógenos mediante proteínas especializadas las cuales se han formado como resultado de los procesos de diferenciación y se clasifican según su significación biológica y función en la célula productora (García, 2004).

Clasificación de los metabolitos secundarios

A fin de establecer un ordenamiento, estos compuestos se clasificarán teniendo en cuenta: su origen biosintético, las características estructurales comunes y las propiedades de solubilidad. Los grandes grupos de metabolitos secundarios a tratar: - Compuestos nitrogenados y azufrados, caracterizados por poseer nitrógeno y/o azufre en su estructura, de solubilidad y origen biosintético diverso pero mayoritariamente derivados de aminoácidos. - Terpenoides, con la molécula de isopreno como unidad estructural, liposolubles, y biosintéticamente asociados a la vía del ácido mevalónico o a la vía gliceraldehído fosfato - ácido pirúvico, dependiendo de la clase de terpenoides en cuestión (Ringuelet y Viña, 2013).

Aceites esenciales

Los aceites esenciales (AE) son mezclas complejas de compuestos más o menos volátiles provenientes del metabolismo secundario de las plantas. Todas las especies vegetales poseen la capacidad de producir compuestos de naturaleza volátil, sin embargo, en la mayoría de los casos, lo hacen únicamente en proporciones traza, excepto las consideradas como “plantas aromáticas”. Muchas de éstas especies se cultivan en mayor o menor escala porque producen esencias que tienen algún tipo de interés comercial. De hecho, más del 90 % de la producción de aceites esenciales se utiliza como materia prima en la industria de la cosmética (perfumes y productos para la piel y el cabello), alimentaria (aromatizantes), farmacéutica (antimicrobianos principalmente) y herboristería (aromaterapia). Alrededor de 3000 especies de plantas pertenecientes a 10 familias botánicas se utilizan actualmente para la obtención de aceites esenciales. Sin embargo, solo 300 de estos aceites se comercializan en el mercado a nivel global, clasificándose éstos en 3 grupos de acuerdo a su volumen de producción (Usano-Aleman y cols, 2014).

Respecto a su distribución, un aceite esencial puede localizarse en un determinado órgano vegetal: flores, hojas, frutos y hasta en las raíces. Estas esencias se producen en glándulas especiales formadas por células secretoras arregladas para formar una bolsa donde se acumula el aceite esencial. El rendimiento de esencia obtenido de una planta varía de unas cuantas milésimas por ciento del peso del vegetal hasta valores que van desde el 1% al 3%, la composición de una esencia puede cambiar con la época de recolección, el lugar geográfico o pequeños cambios genéticos (Noriega, 2009). Estas plantas suelen ser más abundantes en determinadas familias como Pináceas (AE de trementina), Cupresáceas (AE de ciprés o enebro), Lamiáceas (AE de albahaca, lavanda, romero, salvia, menta, etc.),

Mirtáceas (AE de eucalipto, árbol del té, mirto, etc.), Lauráceas (AE de canela, laurel o palo de rosa), Rutáceas (AE de limón, naranja dulce y amarga, pomelo, bergamota, etc.), Asteráceas (AE de manzanilla, estragón, etc.), Apiáceas (AE de anís, culantro, perejil, etc.) (Vigan, 2010).

Los aceites esenciales, al ser compuestos que provienen del metabolismo secundario, están sujetos a cambios en su producción en función de las necesidades de la planta. Éstos son el producto final de un complejo proceso biológico que se encuentra fuertemente condicionado por diversos factores que van a determinar tanto la cantidad como la calidad del mismo. Son muchos los factores que influyen en la composición de un aceite (quimiotipo), entre ellos, los más importantes serían la especie de origen, la parte de la planta que se ha utilizado para la extracción, las condiciones climáticas y de crecimiento (temperatura, fertilizantes, tierra de cultivo, etc.) así como el proceso de destilación o la forma de almacenamiento del aceite (Usano-Aleman y cols, 2014).

Clasificación de los aceites esenciales

Clasificación por consistencia

Las esencias son líquidos volátiles a temperatura ambiente (Rodríguez y cols, 2012).

Los bálsamos son de consistencia más espesa, poco volátiles y propensos a sufrir reacciones de polimerización, son ejemplos, el bálsamo de copaiba, el bálsamo del Perú, bálsamo de Tolú, Estoraque, etc. (Rodríguez y cols, 2012).

Las oleorresinas tienen el aroma de las plantas en forma concentrada y son típicamente líquidos muy viscosos o sustancias semisólidas (caucho,

gutapercha, chicle, oleorresina de paprika, de pimienta negra, de clavo, etc.) (Rodríguez y cols, 2012).

Clasificación por su origen

Los naturales se obtienen directamente de la planta y no sufren modificaciones físicas ni químicas posteriores, debido a su rendimiento tan bajo son muy costosos (Rodríguez y cols, 2012)

Los artificiales se obtienen a través de procesos de enriquecimiento de la misma esencia con uno o varios de sus componentes, por ejemplo, la mezcla de esencias de rosa, geranio y jazmín enriquecida con linalol (Rodríguez y cols, 2012)

Los sintéticos como su nombre lo indica son los producidos por procesos de síntesis química. Estos son más económicos y por lo tanto son mucho más utilizados como aromatizantes y saborizantes (Rodríguez y cols 2012)

Métodos de extracción de los aceites esenciales

Los métodos de extracción varían según la naturaleza de la esencia, de sus propiedades, y en que parte de la matriz vegetal se encuentra contenida; los métodos tradicionales son extracción por destilación (en corriente de vapor, por expresión, por extracción mediante grasas o solventes y por extracción con fluidos supercríticos (Senatore, 2000)

Hidrodestilación

La hidrodestilación es una técnica de destilación directa. En este tipo de extracción el material vegetal que puede estar molido, cortado, entero o la combinación de éstos, se dispone en un recipiente cerrado y se adiciona

agua hasta $\frac{3}{4}$ de la capacidad del recipiente. Posteriormente éste se somete a calentamiento. El agua al llegar al punto de ebullición genera vapor. La generación del vapor debe ser interna (base del recipiente), produciendo la presión suficiente para vencer la resistencia hidráulica del material vegetal. Conforme el vapor entra en contacto con la planta, éste extrae los componentes volátiles. La mezcla de vapor saturado y aceite esencial, fluye hacia un condensador, en donde se condensa y enfría hasta la temperatura ambiente. A la salida del condensador, se obtiene una emulsión líquida inestable, la cual es separada en la trampa de Clevenger o en un tubo separador, en donde se va acumulando el aceite esencial debido a su inmiscibilidad en el agua. La trampa posee un ramal lateral por la cual el agua es desplazada para favorecer la acumulación del aceite. Esta técnica es utilizada comúnmente para extraer aceite esencial de diferentes tipos de vegetales (Cerpa, 2007).

Destilación previa maceración

En algunos casos las plantas aromáticas se someten a un proceso de maceración en agua caliente para favorecer la separación de su aceite esencial ya que sus componentes volátiles están ligados a componentes glicosidados. El método se aplica para extraer el aceite de semilla de almendras amargas, bulbos de cebolla, bulbos de ajo, semillas de mostaza, hojas de gaulteria y hojas de corteza de abedu (Bandoni, 2000).

Extracción: por arrastre con vapor de agua

Es una destilación de mezcla de dos líquidos inmiscibles y consiste, en una vaporización a temperaturas inferiores a las de ebullición de cada una de los componentes volátiles por efecto de una corriente directa de vapor de agua, el cual ejerce la doble función de calentar la mezcla hasta su punto de ebullición y disminuir la temperatura de ebullición. Los vapores salen y se

enfrian en un condensador donde regresan a la fase líquida, los dos productos inmiscibles, agua y aceites esenciales y finalmente se separan en un decantador o vaso florentino (Bandoni, 2000).

Extracción con solventes volátiles

Este método se basa en la facilidad de los disolventes orgánicos para penetrar en el material vegetal y disolver sus aceites volátiles, debido a las diferencias de punto de ebullición entre el aceite esencial y el solvente. En ésta técnica, la muestra seca y molida se pone en contacto con solventes tales como éter de petróleo, pentano, éter etílico, alcohol, cloroformo, etc. Estos solventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como ácidos grasos, ceras y pigmentos, que se pueden separar por destilación controlada. Las extracciones que se realizan se emplean básicamente en la industria perfumera (Cooksley, 1996).

Extracción por Fluidos Supercríticos (EFS)

Consiste en utilizar como material de arrastre sustancias químicas en condiciones especiales de temperatura y presión. El material vegetal se corta en trozos pequeños, licuado o molido, se empaca en una cámara de acero inoxidable y se hace circular a través de la muestra un fluido en estado supercrítico (por ejemplo CO₂). Las esencias son así solubilizadas y arrastradas mientras el fluido supercrítico, que actúa como solvente extractor, se elimina por descompresión progresiva hasta alcanzar la presión y temperatura ambiente. Finalmente se obtiene esencia cuyo grado de pureza depende de las condiciones de extracción (Rodríguez y cols, 2012).

Enflorado o enfleurage

El material vegetal (generalmente flores) se pone en contacto con una grasa. La esencia es solubilizada en la grasa que actúa como vehículo

extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla (el concreto) de aceite esencial y grasa la cual es separada posteriormente por otros medios físico-químicos. En general se recurre al agregado de alcohol caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático (absoluto). Esta técnica es empleada para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa (Rodríguez y cols, 2012).

Extracción con microondas

Consiste en calentar el agua contenida en el material vegetal, que a su vez está inmerso en un disolvente "transparente" a las microondas como puede ser el CCl₄ el hexano o el tolueno. Al aumentar la temperatura del medio, se rompen las estructuras celulares que contienen a la esencia por efecto de su presión de vapor. La esencia se libera y se disuelve en el disolvente presente en el medio. La principal ventaja de esta técnica es su velocidad, pues pueden lograrse extracciones en minutos, cuando comparativamente una técnica tradicional como la hidrodestilación necesita varias horas. Sin embargo, si bien la implementación del sistema de microondas a escala industrial, es factible tecnológicamente implica una fuerte inversión económica (Bandoni, 2000).

Uso de los aceites esenciales

Terapéuticos

Desde el punto de vista farmacológico, las propiedades de los aceites esenciales son muy variables debido a la heterogeneidad de sus componentes. Algunas de las moléculas presentes en ciertas plantas poseen gran interés terapéutico, lo que ha dado origen a la aromaterapia. Algunas de

estas acciones, por sus efectos sobre la piel, han encontrado también su aplicación en cosmética (López, 2004).

Acción espasmolítica y sedante

Los aceites esenciales con anetol (los de muchas umbelíferas, los de las mentas o el de verbena) son eficaces en disminuir o suprimir los espasmos gastrointestinales. Frecuentemente intensifican la secreción gástrica, por lo que se han calificado de digestivos y estomáquicos. Asimismo, algunos aceites esenciales ejercen una acción neurosedante (lavanda, melisa, valeriana) (López, 2004).

Actividad biológica de los aceites esenciales

Los antibióticos actúan como agentes bacteriostáticos (disminuyendo o deteniendo el crecimiento bacteriano) o bactericidas (matando las bacterias). Los aceites esenciales, en cambio, actúan sobre el entorno de la infección, dificultando el crecimiento bacteriano y evitando la división bacteriana (Saz y Ortiz, 2007).

Esta acción antiséptica, que no es antibiótica, se manifiesta frente a un gran número de bacterias patógenas e incluye ciertas cepas antibiorresistentes. Algunos aceites son también activos frente a hongos inferiores responsables de micosis e incluso frente a levaduras (*Candida*). Compuestos como el citral, geraniol, linalol o timol muestran un poder antiséptico muy superior al del fenol (López, 2004).

En general se puede observar que la actividad antimicrobiana de los aceites esenciales es de amplio espectro inhibiendo el crecimiento de bacterias Gram positivas y Gram negativas (Longaray, Moshen-Pistorello, Artico, Atti-Sefarini y Echeverrigaray, 2007). La mayor resistencia de las bacterias Gram negativas puede ser adscrita a la presencia de la membrana

fosfolípida exterior, haciéndola casi impermeable a los compuestos lipofílicos. La ausencia de esta barrera en las bacterias Gram positivas permite que los compuestos de los aceites esenciales interactúen con la bicapa de fosfolípidos de la membrana celular, causando un incremento en la permeabilidad de la célula o unión en sitios específicos de transporte (Cowan, 1999).

Composición química de los aceites esenciales

Los aceites esenciales contienen mezclas complejas de compuestos orgánicos que pueden llegar extraordinariamente a un número de 100, químicamente son muy diversos llegando a catalogarlos en cuatro grandes grupos: los hidrocarburos terpénicos y sus derivados oxigenados, los hidrocarburos alifáticos y sus derivados oxigenados, los derivados del benceno y los compuestos misceláneos (Noriega, 2009).

Hidrocarburos terpénicos

Monoterpenos (C₁₀): acíclicos, monocíclicos, bicíclicos;
Sesquiterpenos (C₁₅): acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, sesquiterpelactonas, azulenos; Diterpenos (C₂₀): acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, tricíclicos, giberelinas; Triterpenos (C₃₀) y tetraterpenos (C₄₀), según el número de unidades de isopreno que las forman (Noriega, 2009)

- Monoterpenos.

Los Monoterpenos son terpenos de 10 átomos de carbonos derivados biosintéticamente de geranilpirofosfato (GPP). Forman parte de la mayoría de los aceites esenciales extraídos de flores, hojas y tallos de plantas aromáticas. Son difíciles de purificar, sólo el alcanfor se obtiene en forma pura por cristalización del aceite (Montoya, 2010). Ejemplo de un monoterpeno: Geraniol se observa en la figura 2.

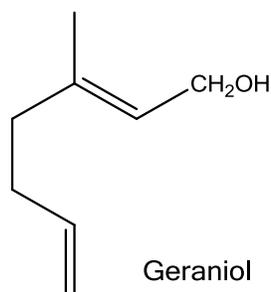
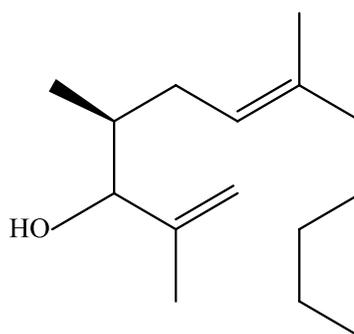


Figura 2. Monoterpeno

Fuente: Montoya, 2010

- Sesquiterpenos.

Son estructuras que contienen 15 átomos de carbonos derivados biosintéticamente del farnesilpirofosfato (FPP), formadas a través de la condensación isoprénica. Se encuentran frecuentemente en aceites esenciales. Entre ellos destacan las lactonas presentes en el árnica o los sesquiterpenos que contiene la valeriana. Estos presentan una gran diversidad esquelética como resultado de la facilidad de reorganizarse que tienen estas estructuras (Kuklinski, 2000). Ejemplo de un sesquiterpeno: Nerodiol se muestra en la figura 3.



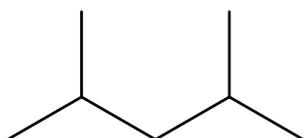
Nerodiol

Figura 3. Sesquiterpeno

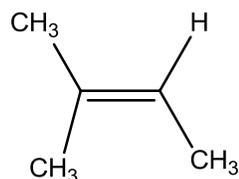
Fuente: Montoya, 2010

Hidrocarburos alifáticos

Los hidrocarburos alifáticos y sus derivados son el segundo grupo mayor de los aceites esenciales, comprenden largas cadenas de hidrocarburos y sus derivados oxigenados, tales como: aldehídos, cetonas, ácidos, ésteres. Estos hidrocarburos van desde el *n*-heptano, hasta moléculas de 15 a 35 átomos de carbono (Noriega, 2009). Ejemplo de un alcano: 2,4-dimetilpentano, un alqueno: 2-metil-2-buteno, un alquino: 2-butino como se observa en la figura 4.



2,4-dimetilpentano



2-metil-2-buteno



2-butino

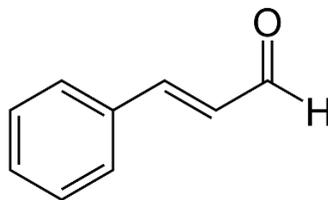
Figura 4. Hidrocarburos alifáticos

Fuente: Noriega, 2009

Derivados del benceno

El tercer grupo de constituyentes de los aceites esenciales se refiere a los productos derivados del benceno o específicamente del *n*-propilbenceno y sus derivados oxigenados, tenemos el ejemplo del cinemaldehído componente principal del aceite del fruto del *Ocimum* (Bruni, Medici,

Andreotti, Fantin, Muzzoli, Dehesa y Sacchetti, 2004). Ejemplo de un derivado del benceno se observa en la figura 5.



Cinamaldehído

Figura 5. Derivado del benceno

Fuente: Bruni y cols, 2004

Alcoholes

En aceites esenciales se tiene grupos alcohólicos unidos a los siguientes compuestos o familias de compuestos; alifáticos, monoterpenos, sesquiterpenos y aromáticos (fenoles) (Montoya, 2010). Ejemplo de un alcohol: isopulegol representado en la figura 6.

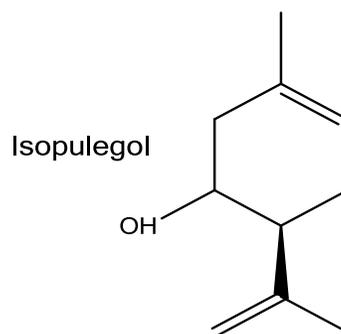


Figura 6. Alcohol

Fuente: Montoya, 2010

Aldehídos

En los aceites esenciales, responsables del aroma, se encuentran haciendo parte compuestos aldehídicos tipo alifáticos, terpénicos y

aromáticos (Montoya, 2010). Ejemplo de un aldehído se muestra en la figura 7.

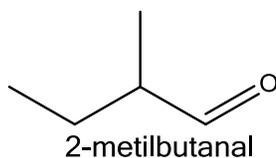


Figura 7. Aldehído

Fuente: Montoya, 2010

Compuestos fenólicos y derivados

En los compuestos fenólicos simples, se tienen el ácido vainílico, ácido gálico, ácido cumárico, ácido cafeíco y el hidroxitirosol. Se les considera como constituyentes provenientes del aroma secundario, debido principalmente a transformaciones fisicoquímicas de diversos compuestos, que por la acción de levaduras y bacterias, o por extracción de sustancias presentes en la madera, comunican un aroma específico, como en el vino. Algunos de ellos son, por ejemplo, el vinilguayacol, eugenol, siringol y guayacol (Montoya, 2010). Ejemplo de un compuesto fenólico representado en la figura 8.

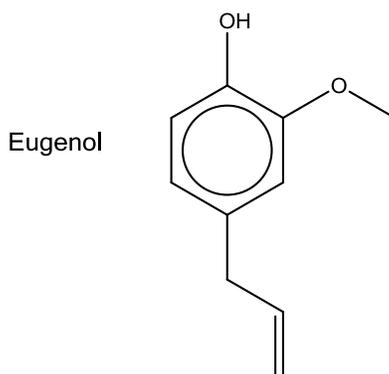


Figura 8. Compuesto fenólico

Fuente: Montoya, 2010

Compuestos Furánicos

Por efectos como cambios de temperatura, durante procesos de cocción se genera en los alimentos compuestos de carácter furánico provenientes de la ciclización de azúcares, poseedores de aroma a caramelo. Poseen configuración planar. El 5-metilfurfural, por ejemplo, se identifica como uno de los responsables del aroma dulzón en la carne asada. El 2,5-dimetil-4-hidroxifuran-3-(2H)-ona se ha encontrado en frutas tropicales como piña, guayaba, fresa, etc (Montoya, 2010).

Compuestos azufrados

De todos los constituyentes que componen un aroma, los más desagradables desde el punto de vista sensorial, son los compuestos azufrados, presentes en diferentes alimentos, como huevo, hortalizas, legumbres, vinos y bebidas. Los tioles se califican como sustancias que poseen los aromas más intensos e irritables. En baja concentración, son complementarios de aromas agradables, como en el aroma del café tostado. En vino, cerveza y malta se consideran como provenientes de la metionina, debido a la presencia de microorganismos durante la fermentación. En vino se han identificado el ácido 3-metiltiopropiónico, el 2-metiltioetanol, mercaptoetanol, 3-metil- tiopropanal, 3-metiltiopropionato de etilo y benzotiazol, entre otros, y en legumbres y hortalizas los tioles y compuestos disulfuro, que se desprenden durante la cocción, por ejemplo, en coliflor y brócoli, causando un aroma desagradable (Montoya, 2010).

Isotiocianatos

Son compuestos organosulfurados presentes en el berro, calabaza y brócoli. Cuando estos vegetales son macerados, cortados o masticados, la enzima mirocina se activa e hidroliza conjugados tioglucósidos para

generar los isotiocianatos. Los isotiocianatos de origen natural más conocidos son el benzil isotiocianato, feniletil isotiocianato y sulforafano (Serrano y cols, 2006). Ejemplo de un isotiocianato

Método de análisis de los aceites esenciales.

Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas

La Cromatografía de Gases se puede combinar con otras técnicas espectroscópicas como la Espectrometría de Masas proporcionando de esta manera una herramienta potente para la identificación de los componentes de una mezcla compleja. En la Cromatografía Gases-Espectrometría de Masas, el cromatógrafo se encuentra acoplados a un espectrómetro de masas, de manera que los analitos separados en la columna cromatografía penetran directamente en la cámara de ionización registrándose así el espectro de masas de cada uno de ellos. Esta técnica permite obtener no solo el cromatograma de una mezcla compleja sino además proporciona el espectro de masas de cada componente de la mezcla. Este procedimiento ha permitido la identificación de cientos de componentes que están presentes en sistemas naturales y biológicos como por ejemplo las sustancias responsables del olor y sabor en los alimentos, la identificación de contaminantes del agua o la de metabolitos secundarios (Domínguez, 1973).

Bacterias

Desde 1968, las bacterias están oficialmente incluidas en el reino procariota, debido a su núcleo primitivo, junto con las algas azul verdosas y las arqueobacterias. La gran mayoría son de vida libre y sólo unas pocas son parásitas, pudiendo causar lesiones que se traducen en enfermedades. En general las bacterias miden entre 1 a 6 micras de longitud y sólo excepcionalmente algunos espirilos o filamentos llegan a medir 50 ó 60

micras. Se observan en forma esférica, de bastón o de espirilos, y se agrupan en forma muy característica para cada familia, género y especie (Romero, 2007).

Las bacterias exhiben una considerable diversidad de formas, pero entre las más frecuentes distinguimos: los denominados cocos, que tienen forma de esfera, los bacilos como *Escherichia coli*, que son como bastones de longitud variable de extremos redondeados, y los espirilos, que son células helicoidales. Algunas variantes de estas formas son los cocobacilos (óvalos) y las bacterias corineformes bacilos irregulares con un extremo ensanchado. Menos frecuentes son los vibriones, con forma de coma (cortos bastones encorvados). El más conocido es *Vibrio cholerae*, agente causante del cólera (Curtis, Schnek y Massarini, 2008).

El crecimiento bacteriano es el aumento de la célula bacteriana, pero el crecimiento bacteriano de mayor trascendencia es el que se refiere al aumento de la población, al número de bacterias y a la masa total de todo conjunto de la población. Considerado así el crecimiento bacteriano, deberemos definir los dos conceptos con los que podemos medir el crecimiento bacteriano. Concentración bacteriana es el número de células que se encuentran en un volumen determinado del medio de cultivo; y densidad bacteriana es la masa total del conjunto de la población, sin que importe el número de bacterias (Romero, 2007).

Morfología bacteriana

La composición química de la membrana de las eubacterias es similar a la de una célula eucariótica: los ácidos grasos son generalmente lineales y la unión entre ellos y el glicerol es de tipo éster. Esta es una característica de los dominios Bacteria y Eukaria. Sin embargo, las membranas bacterianas carecen de colesterol u otros esteroides excepto en los micoplasmas (las

células más pequeñas de vida libre). Por el contrario, los lípidos de la membrana de las arqueobacterias están formados por hidrocarburos largos y ramificados que se unen al glicerol por una unión de tipo éter. Éste es uno de los criterios no genéticos más usados para diferenciar a los tres dominios. En los procariotas aerobios, en la membrana celular se ubican las moléculas transportadoras de electrones de la cadena respiratoria. En las bacterias fotosintéticas, pero no en las cianobacterias, en la membrana también se encuentra la maquinaria fotosintética. La membrana contiene, además, sitios de unión específicos para las moléculas de ADN que asegurarían la separación de los cromosomas replicados durante la división celular (Curtis y cols, 2008).

Pared celular

Casi todos los procariotas están rodeados por una pared celular que da a la célula su forma característica. En algunos casos, la pared es flexible pero, en general, es rígida. Dado que la mayoría de las bacterias son hipertónicas en relación con su ambiente, estallarían si no tuviesen pared (Curtis y cols, 2008).

El tipo de tinción celular, como resultado del uso de ciertos colorantes, es uno de los caracteres fenotípicos que hemos mencionado para la identificación de las bacterias. La coloración de Gram es de uso prácticamente universal para la identificación de bacterias y refleja una diferencia fundamental en la arquitectura de la pared celular de las bacterias (Curtis y cols, 2008)

Clasificación de las bacterias

La pared celular le da forma a la bacteria y su composición varía entre bacterias. En bacterias Gram positivas, consiste de varias capas de

peptidoglucano (formado por los azúcares N-acetilglucosamina más N-acetilmurámico y un tetrapéptido) que retienen el cristal violeta utilizado en la tinción de Gram; otros componentes de la pared incluyen redes de ácido teicoico y ácido lipoteicoico. Las bacterias Gram negativas cuentan con dos membranas (una externa y una interna) así como una capa delgada de peptidoglucano entre ambas, en el llamado espacio periplásmico (Molina, Manjarrez y Zabala, 2016).

Bacterias Gram positivas

Staphylococcus aureus

El nombre del género *Staphylococcus* se refiere a que las células de estos cocos se desarrollan en un patrón que recuerda a un racimo de uvas; sin embargo, los microorganismos presentes en muestras clínicas aparecen como células aisladas, en pares o en cadenas cortas. La mayor parte de los estafilococos tiene un diámetro de entre 0,5 y 1 μm y son anaerobios facultativos (es decir, crecen aerobia y anaerobiamente) inmóviles capaces de crecer en un medio con una elevada concentración de sal (p.ej., cloruro sódico al 10%) y a temperaturas de 18-40 $^{\circ}\text{C}$. Estas bacterias están presentes en la piel y las mucosas del ser humano. Las especies que se asocian con mayor frecuencia a enfermedad en el ser humano son *S. aureus* (el miembro más virulento y mejor conocido del género), *Staphylococcus epidermidis*, *S. hemolíticas*, *Staphylococcus liigduttensis* y *Staphylococcus saprophyticus*. *S. aureus* resistente a meticilina (SARM) es importante porque produce graves infecciones en pacientes hospitalizados y más recientemente también de forma extrahospitalaria en niños y adultos previamente sanos (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Enterococcus faecalis

Los enterococos (cocos entéricos) se clasificaron previamente como estreptococos del grupo D debido a que poseen el antígeno de la pared celular del grupo D, un ácido teicoico con glicerol que se asocia a la membrana citoplasmática. En el año 1984, los enterococos se clasifican en el nuevo género *Enterococcus*, el cual consta actualmente de 38 especies; sin embargo, relativamente pocas especies son patógenos importantes para los seres humanos. Las especies que se aíslan con una mayor frecuencia y que son clínicamente las más importantes son los *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, *Enterococcus gallinarum* y *Enterococcus casseliflavus* también constituyen frecuentes colonizadores del aparato digestivo del ser humano y revisten importancia porque estas especies muestran una resistencia inherente frente a la vancomicina (Murray y cols, 2009).

Los enterococos son cocos Gram positivos que típicamente se disponen en parejas y en cadenas cortas. A menudo, la morfología microscópica de estos microorganismos no se puede distinguir de la de *Streptococcus pneumoniae*. Los cocos crecen de forma aerobia y anaerobia y en un amplio intervalo de temperatura (10-45 °C) (Murray y cols, 2009).

Bacterias Gram negativas

Escherichia coli

El género *Escherichia* y su principal especie, *E. coli*, están constituidos por enterobacterias móviles que fermentan la lactosa (bacilos coliformes) y la glucosa, con producción de gas y ácidos diversos (fermentación ácido-mixta), y que presentan una respuesta característica al grupo de pruebas Indol, Rojo de metilo, Voges-Proskauer y Citrato (IMVIC). Son bacilos Gram negativos poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a los agentes externos, que se cultivan en medios comunes, incluso a temperaturas de 45°C, que permite diferenciarlos de los demás coliformes.

Forman la mayor parte de la flora comensal aerobia y anaerobia facultativa del tubo digestivo, y se eliminan por las heces al exterior. Por esto, es frecuente que se encuentren en el medio ambiente, donde son capaces de sobrevivir durante cierto tiempo en el agua y los alimentos, de manera que su aislamiento constituye un indicador de contaminación fecal reciente. Por otra parte, pueden intervenir en procesos patológicos como patógenos verdaderos en la producción de cuadros intestinales con diarrea como oportunistas en infecciones extraintestinales diversas, que también pueden ser producidas por otras enterobacterias (Pumarola, Rodríguez, García y Piedrola, 1995).

Klebsiella pneumoniae

Son enterobacterias inmóviles en su gran mayoría productoras de ureasa que se caracterizan por con la presencia de una capsula y la formación de colonias mucosas en medio sólido. Presentan un antígeno capsular K y un antígeno somático, que por pruebas de aglutinación O de hinchamiento de la capsula ha permitido dividir el género en 11 grupos O y 80 tipos K, algunos de los cuales presentan reacciones cruzadas con los polisacáridos capsulares del neumococo (Pumarola y cols, 1995).

K. pneumoniae subespecie *pneumoniae* y *K. oxytoca*, son las más frecuentes y difundidas en la naturaleza (agua, vegetales, alimentos). Se encuentran en las vías respiratorias superiores del 5-10 % de personas normales y se aíslan del 20 % de esputos y también de las heces. Intervienen en procesos neumónicos, que, a diferencia de la neumonía neumocócica, se caracterizan por presentar una clara tendencia a la necrosis, con formación de abscesos y elevada mortalidad, especialmente en alcohólicos y enfermos hospitalizados (Pumarola y cols, 1995).

Pseudomonas aeruginosa

Las bacterias del género *Pseudomonas* se definen como bacilos Gram negativos, casi siempre móviles por uno o varios flagelos polares, aerobios estrictos (si bien algunas especies pueden emplear como aceptor alternativo el nitrógeno) y cuyo metabolismo utiliza solo la vía oxidativa (Pumarola y cols, 1995).

Se distinguen tres tipos de antígenos en *P. aeruginosa*: somático (O), flagelar (H) y mucoide (M). El antígeno O, lipopolisacárido y termoestable, es responsable de la especificidad de grupo y está constituido por varios componentes antigénicos, mayores y menores. No está relacionado con la endotoxina, que posee un componente proteico (Pumarola y cols, 1995).

La resistencia a los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos es la resistencia de un microorganismo a un medicamento antimicrobiano al que originalmente era vulnerable (OMS, 2014).

Los organismos resistentes (bacterias, hongos, virus y algunos parásitos) pueden resistir ataques de medicamentos antimicrobianos tales como antibióticos, fungicidas, antivirales y antipalúdicos, de tal forma que los tratamientos convencionales se vuelven ineficaces y las infecciones persisten, lo que incrementa el riesgo de propagación (OMS, 2014).

La aparición de cepas resistentes es un fenómeno natural que ocurre cuando los microorganismos se reproducen de forma errónea o se intercambian características de resistencia, pero la utilización y el uso indebido de antimicrobianos también acelera su aparición. Las prácticas inapropiadas de control de las infecciones, las malas condiciones sanitarias y la manipulación inadecuada de alimentos propician la propagación de las resistencias (OMS, 2014).

Método de determinación de actividad antibacteriana

Método de Kirby Bauer

Uno de los métodos mayormente utilizados para la realización de las pruebas de sensibilidad es la difusión en agar que fue estandarizada por Kirby y Bauer en 1966, por lo que se le conoce con el nombre de prueba de Kirby-Bauer. Es un procedimiento sencillo y fácil de realizar en los laboratorios ya que sólo brinda información cualitativa o semicuantitativa sobre la sensibilidad de un microorganismo a un antibiótico determinado. Sin embargo, los resultados obtenidos son de gran valor clínico para iniciar, mantener o modificar una antibioticoterapia (Ramírez, García, Longa, Sánchez, Velasco, Araque y Mosqueda, 2008).

Definición de términos

Antibióticos: sustancias producidas por varias especies de microorganismos (bacterias, hongos, actinomices), que suprimen el crecimiento de otros microorganismos y eventualmente pueden destruirlos. El uso común ha extendido el término de antibiótico a agentes antibacterianos sintéticos como sulfonamidas y quinolonas (Ramírez y cols, 2006).

Antimicrobiano: molécula natural (producida por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintética o semisintética, capaz de inducir la muerte o la detención del crecimiento de bacterias, virus u hongos. Hoy en día no se utilizan moléculas de origen natural, por lo cual no se establece más la diferenciación con quimioterápicos, término usado para referirse a las moléculas de origen sintético y sus derivados. Utilizaremos el término antibiótico para referirnos al subgrupo de antimicrobianos con actividad antibacteriana (Seija y Vignoli, 2006).

Cultivo puro: es un cultivo que contiene una clase de microorganismo. (Ramírez y cols, 2008).

Halos de Inhibición: el diámetro de la inhibición depende de la sensibilidad de la bacteria pero también de la capacidad de la difusión del antibiótico. (Prats, 2006).

Inóculo: una porción de una población de un microorganismo (Ramírez y cols, 2006).

Plantas medicinales: son aquellos que elaboran unos productos llamados principios activos que son sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo (Muñoz, 1996).

Operacionalización de las variables

Según Hernández, Fernández y Baptista (2014), expresan que las variables son una propiedad que puede adquirir diversos valores y cuya variable es susceptible de medirse. Las variables de acuerdo a los casos de estudio analítico puede ser variable dependiente e independiente:

- Variable independiente: Composición química del aceite esencial de las hojas, flores y tallos de la especie de *Brassica napus* L. Ver tabla 6.
- Variable dependiente: Actividad antibacteriana del aceite esencial *Brassica napus* L frente a bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) y Gram negativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*), como se observa y se especifica en la tabla.

Tabla 6. Variable independiente

Variable	Tipo	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores
Composición química del aceite esencial de la especie <i>Brassica napus</i> L	Independiente	Los aceites esenciales contienen mezclas complejas de compuestos orgánicos químicamente muy diversos (Noriega, 2009)	Identificación de los componentes químicos volátiles se realiza mediante cromatografía de gases acoplada espectrometría de masas	Cualitativo y cuantitativo intensidad de la señal generada en la relación a las cargas emitidas.	% de área, tiempo de retención e índice de Kovats

Tabla 7. Variable dependiente.

Variable	Tipo	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores
Actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie <i>Brassica napus</i> L	Dependiente	La actividad antibacteriana de los aceites esenciales estaría relacionada con sus componentes volátiles (Dorman y Deans, 2002)	Los discos impregnados de los aceites esenciales se depositaron en el agar que fue previamente inoculado con cepas bacterianas conocidas ATTC.	Sensible Intermedio Resistente	Observar y medir los tamaños de los halos de inhibición de crecimiento bacteriano.

Hipótesis

Los compuestos volátiles obtenidos de los aceites esenciales del género *Brassica* han demostrado poseer actividad antibacteriana, por lo tanto es de esperar que los aceites esenciales de las hojas, flores y tallos de *Brassica napus* L, recolectada en el Páramo La Culata de Mérida-Venezuela, posean los componentes químicos necesarios que les proporcionen capacidad de ejercer actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO

Tipo de investigación

La profundidad del conocimiento que se quiere adquirir tiene relación directa con el tipo de investigación. En tal sentido, Hurtado (2010), refirió que el tipo de investigación guarda relación con los niveles de complejidad del proceso de investigación. Del mismo modo refirió que la investigación confirmatoria tiene como propósito verificar las hipótesis derivadas de las teorías, indagando acerca de las posibles relaciones entre eventos, a partir del control de una serie de variables extrañas. Al respecto, esta investigación será de tipo confirmatoria, ya que el grado de elaboración fue determinar la composición química del aceite esencial obtenidos de las diferentes partes de la especie *Brassica napus* L y su actividad antibacteriana en cepas bacterianas conocidas, en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes a través de un criterio de análisis de resultados.

Diseño de la investigación

Las estrategias que se implementan para recolectar los datos de un proceso de investigación constituyen el diseño (Hurtado, 2010). En tal sentido el diseño de ésta investigación fue de campo ya que los datos fueron recolectados y analizados en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes, también ha sido experimental porque las muestras fueron colectadas durante el periodo de

desarrollo de la Investigación, además según la amplitud de la investigación será univariable (un solo evento), al mismo tiempo fueron transversales, ya que los datos se tomaron en un solo momento.

Población y muestra

La población conduce hacia el conjunto finito o infinito de elementos que presentan características comunes con el fenómeno que se investiga. En tal sentido, Hernández, Fernández y Baptista (2004), refirieron que una población es el conjunto de todos los casos que concuerdan con una serie de especificaciones. La población en la investigación fue la especie *Brassica napus* L recolectada en el páramo merideño (La Culata). La unidad de muestra fueron las, hojas, flores y tallos para obtener aceites esenciales de *Brassica napus* L de cada una de las partes de la planta, en el Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Sistemas de variables

Variable Independiente: Composición química del aceite esencial de la especie *Brassica napus* L.

Variable dependiente: Actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie *Brassica napus* L.

Instrumento de recolección de datos

Se recolectaron mediante la observación de los métodos empleados, registrando resultados, interpretando y analizando los datos con respecto algunos parámetros predeterminados existentes en el laboratorio, como fue el caso de la cromatografía y el análisis de la actividad antibacteriana.

Procedimiento de la Investigación

Material vegetal

Las flores, hojas y tallos de *B. napus* L, fueron recolectadas en La Culata, Sierra de La Culata, Estado de Mérida, Venezuela a 3.100 msnm (Anexo 1). La muestra fue identificada por el Prof. Pablo Meléndez y depositada en el Herbario MERF de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes, bajo el número de colección 1 y por el colector López U, perteneciente a la familia de las Brassicaceae, como se puede observar en la figura 9, donde quedó el registro en el Herbario MERF.



Figura 9. Registro en el Herbario MERF

Fuente: Herbario MERF

Obtención del aceite esencial

Para obtener el aceite esencial de la especie en estudio, se recolectaron de las diferentes partes aéreas del material vegetal fresco, 2304 gramos de hojas, 2460 gramos de flores, 2400 gramos de tallos. Las flores y las hojas fueron separadas de tallo; las hojas, flores y tallos fueron cortados

en trozos pequeños y posteriormente se licuaron con agua para lograr mayor rendimiento del aceite.

Luego se procedió a la extracción de los aceites esenciales por medio de un equipo de hidrodestilación, empleando la trampa de Clevenger (Anexo 2). La temperatura en el balón de extracción empleado, se mantuvo a 80 °C por un tiempo de 3 a 4 horas aproximadamente para lograr extraer todo el aceite posible contenido en el material vegetal, usando el destilador del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. Al culminar el proceso de extracción se procedió a guardar el aceite en un frasco hermético de color ámbar para resguardarlo de la luz y el oxígeno, se le adicionó sulfato de sodio anhidro para eliminar el exceso de agua y se almacenó entre 4-5 °C.

Análisis de la composición química del aceite

El análisis se realizó en un cromatógrafo de gases Hewlett Packard 6890 serie II acoplado a un detector de masa Hewlett Packard 5973, equipado con un inyector automático HP y una columna capilar HP 5Ms de 30 m de largo. La energía de ionización fue de 70 eV. Se colocó una muestra de 1,0 µL de 2 % de solución del aceite en *n*-heptano con un reparto de 100:1. La identificación de los componentes del aceite se estableció utilizando la base de datos Wiley (6ta edición) (Adams, 2007)

Análisis bacteriológico

Cepas bacterianas: en la presente investigación fueron usadas las bacterias Gram positivas: *Staphylococcus aureus* (25923), *Enterococcus faecalis* (29212). Gram negativas: *Pseudomonas aeruginosa* (27853), *Klebsiella pneumoniae* (233357), *Escherichia coli* (25992).

Determinación de la actividad antibacteriana

Preparación de los inóculos bacterianos

Cada bacteria fue cultivada en caldo Müller-Hinton e incubadas a 37 °C durante 18 horas. A partir de este cultivo, se tomó una parte y se diluyó con solución salina fisiológica estéril (0,85 %) hasta obtener una turbidez visualmente comparable al patrón McFarland N° 0,5, equivalente a 10^{6-8} UFC/mL (Velasco, Rojas, Salazar, Rodríguez y Díaz, 2007).

Preparación de las placas de Petri Agar Müller-Hinton

Las cápsulas de Petri de 5-12 cm de diámetro (usualmente 9 cm) se llenaron con 20 mL de caldo de Agar Müller-Hinton previamente esterilizado y luego se dejaron solidificar a 4 °C durante varias horas, una vez solidificado se inocularon en forma homogénea cada microorganismo de ensayo en la superficie del agar con un hisopo estéril (Velasco y cols, 2007).

Impregnación de los discos

Se utilizaron discos de papel de filtro de 6 milímetros (mm) de diámetro previamente esterilizados en cámara de flujo laminar bajo rayos UV durante 12 horas aproximadamente y se impregnaron los discos con 10 µL del aceite esencial puro (Velasco y cols, 2007). Un control positivo estuvo representado por discos de antibióticos comerciales los cuales inhibieron el crecimiento bacteriano de las cepas ensayadas Gram positivas y Gram negativas pertenecientes a la Colección de Cultivo Tipo Americano (ATCC) utilizando los siguientes antibióticos:

- Eritromicina (15mg) para *Staphylococcus aureus*,
- Ampicillina (10mg) para *Enterococcus faecalis*,
- Piperacilina (100mg) para *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Se colocaron en la superficie del agar inoculado los discos de papel de filtro ya impregnados con los tres aceites, con una distancia considerable uno de otro y los controles positivos respectivamente para cada microorganismo.

Inoculación bacteriana

El inóculo se extendió sobre placas de agar donde se colocaron los discos de papel de filtro (6 mm) saturados con 10 µL de de los aceites esenciales puros (tallos, hojas flores) (Velasco y cols, 2007).

Incubación

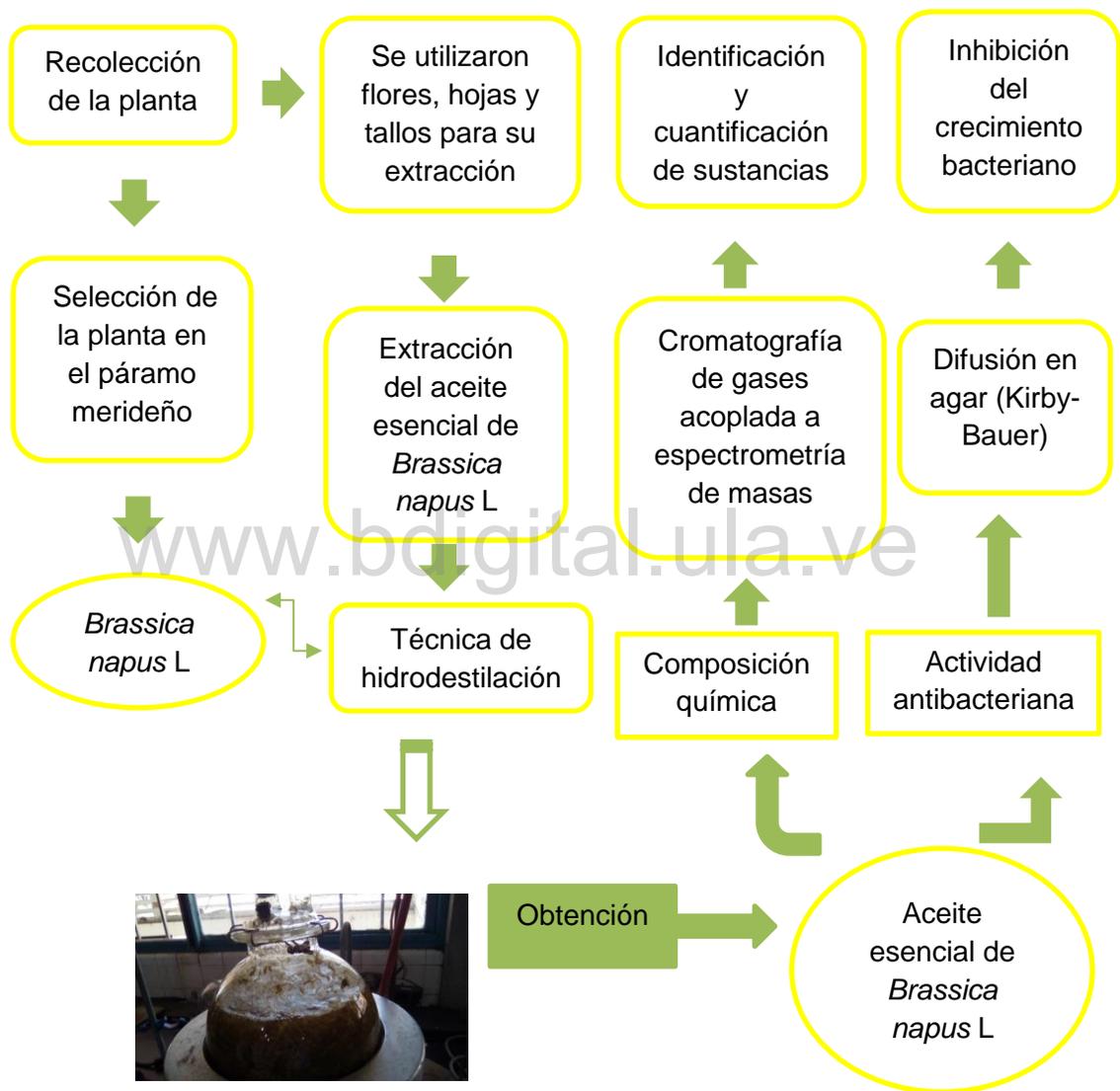
Posteriormente el medio de cultivo inoculado y con las muestras se dejó en preincubación durante 6 -7 horas a 4 °C y luego se incubaron a 37 °C durante 24 horas (De los Ríos y cols, 1999).

Lectura de la prueba

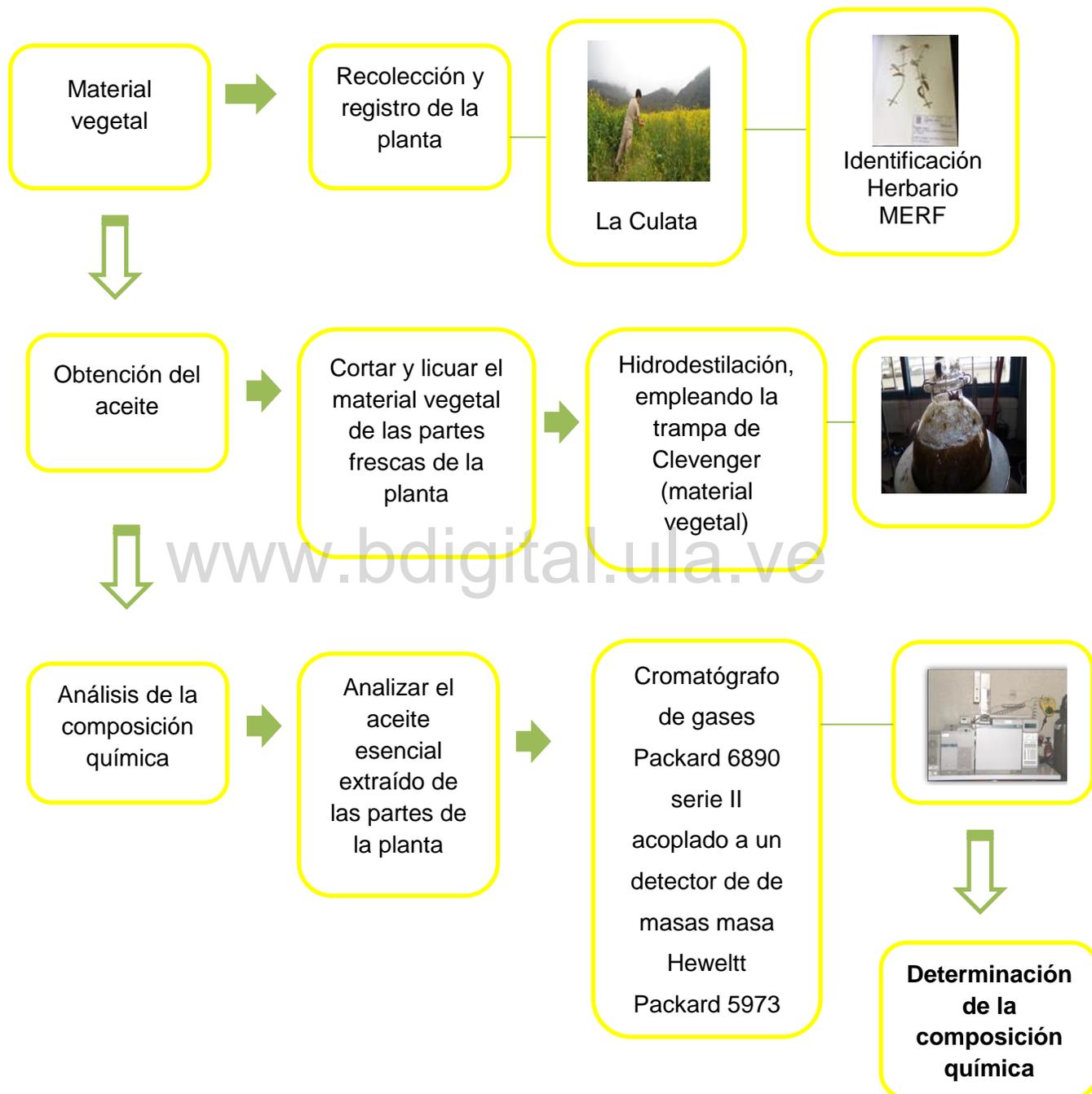
Transcurrido el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura de los halos de inhibición; el diámetro de la zona de inhibición producto de la actividad antibacteriana del aceite se expresó en milímetros (mm) (Velasco y cols 2007).

En el esquema 1, se puede observar los pasos generales para la determinación de la composición química del aceite esencial de las diferentes partes de la especie *Brassica napus* L y su actividad antibacteriana, seguidos por el esquema 2, donde se detallan los pasos para la determinación de la composición química y finalmente el esquema 3, se visualizan los pasos para la determinación de la actividad antibacteriana.

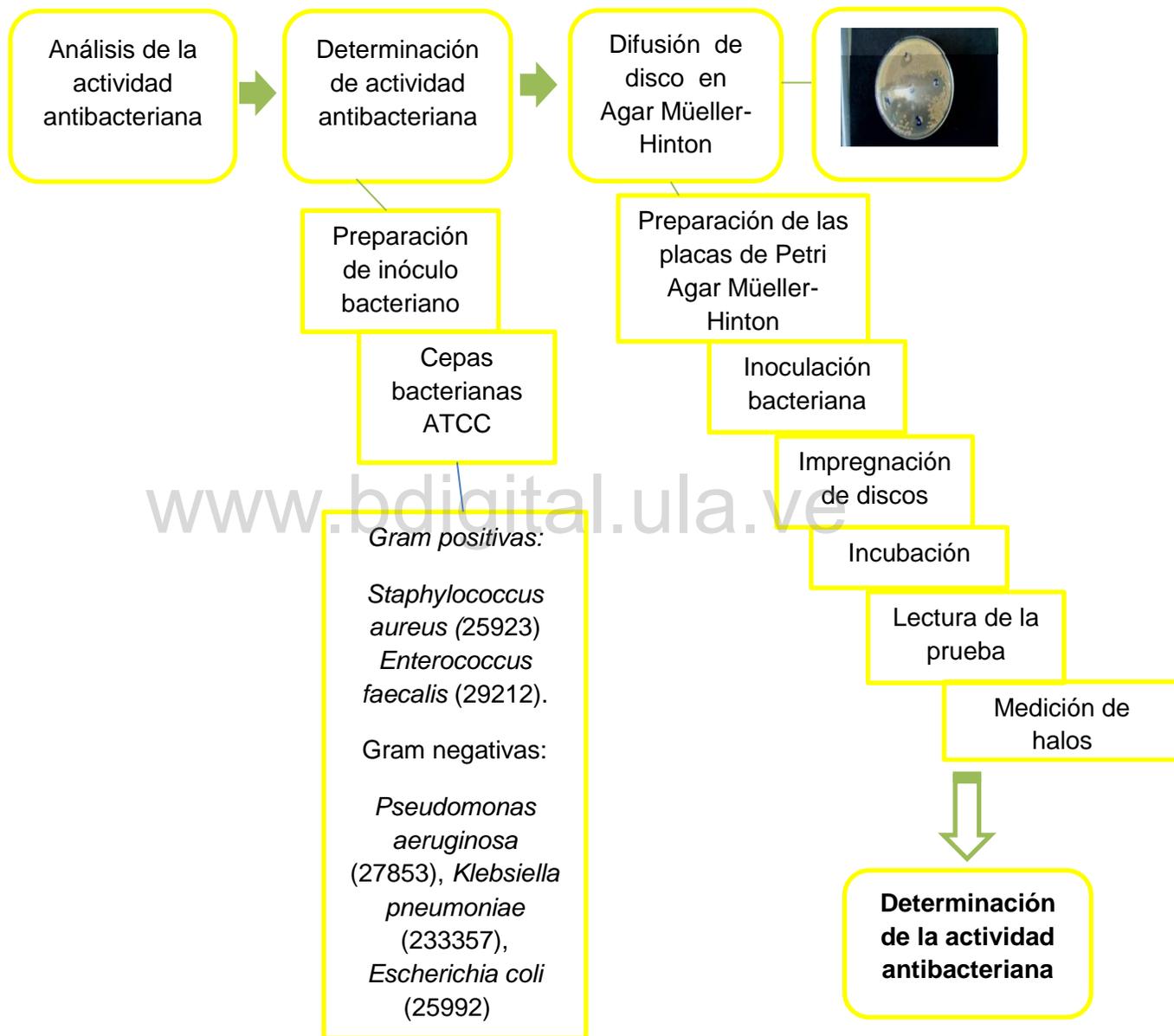
Esquema1. Pasos generales seguidos para la determinación de la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Brassica napus* L.



Esquema 2. Pasos seguidos para la determinación de la composición química del aceite esencial de *Brassica napus* L



Esquema 3. Pasos seguidos para la determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Brassica napus* L.



CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

Resultados de la composición química del aceite esencial de *Brassica napus* L

Una vez obtenido el aceite esencial a través del proceso de hidrodestilación al que fueron sometidas cada una de las diferentes partes frescas de la planta (flores, hojas y tallos) de la especie vegetal seleccionada (*Brassica napus* L), recolectadas en el páramo andino venezolano, específicamente en el Sierra de La Culata, en Mérida, Venezuela. Se determinaron algunas características físicas, de la cuales se tomaron en cuenta el aspecto, color y olor de los tres aceites. Dos de los aceites tanto el de las flores, como las hojas presentaron un aspecto transparente de color amarillo y el de los tallos era un aspecto turbio y de color ligeramente blanco, los tres presentaron un olor fuerte con una tonalidad azufrada, el de las flores se caracterizó por presentar el olor más fuerte. Como se puede observar en la tabla 8.

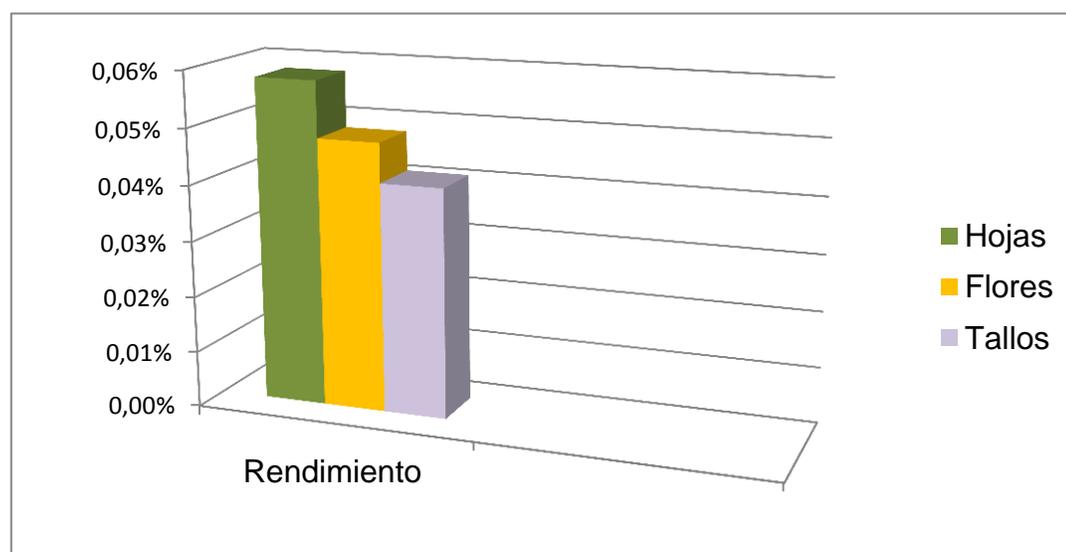
El rendimiento obtenido de los aceites de acuerdo al peso en gramos de las diferentes partes de la planta (hojas, flores y tallos) con respecto a la cantidad de aceite extraído fue mayor en las hojas (0,058%), seguido de las flores (0,048%) y los tallos (0,041%), que fue el que obtuvo el menor rendimiento de los tres. En la gráfica 1 se puede apreciar el rendimiento de cada uno de los aceites esenciales en relación con cada una de las partes estudiadas.

Tabla 8. Características físicas de los aceites esenciales de las hojas, flores y tallos de la especie *Brassica napus* L

Características físicas observadas	Aceite esencial de las hojas	Aceite esencial de las flores	Aceite esencial de los tallos
Aspecto	Transparente	Transparente	Turbio
Color	Amarillo	Amarillo	Ligeramente blanco
Olor	Fuerte	Fuerte	Fuerte
Peso de hojas	2304 gramos	2460 gramos	2400 gramos
Volumen obtenido	1,35 mL	1,2 mL	1 mL
Rendimiento	0,058 %	0,048%	0,048%

www.bdigital.ula.ve

Gráfica 1. El rendimiento obtenido de los aceites esenciales de la especie *Brassica napus* L



En la composición química del aceite esencial de *Brassica napus* L, se determinaron diferentes componentes volátiles para cada una de las partes de la planta, dentro de los cuales se destacan compuestos azufrados, nitrogenados y alcoholes. Además, se lograron identificar un total de siete compuestos en los tres aceites y compuestos mayoritarios en común. En la tabla 9, se muestran los componentes identificados de cada uno de los aceites esenciales (hojas, flores y tallos) y en el anexo 3 los cromatogramas.

Tabla 9. Compuestos del aceite esencial de las hojas, flores, tallos de la especie *Brassica napus* L.

Partes de la planta	N° Picos	Tiempo de retención	% de área	Compuesto	IK calculado	IK tabulado (según NIST)
Hojas	1	3,25	31,05	<i>trans</i> -3-hexen-1-ol	852	853
Flores	1	3,706	17,63	<i>trans</i> -3-hexen-1-ol	851	853
Tallos	1	3,781	5,68	2-metil-5-hexenonitrilo	856	849
Hojas	2	3,807	3,27	2-metil-5-hexenonitrilo	858	849
Flores	2	3,797	22,51	2-metil-5-hexenonitrilo	858	849
Tallos	2	6,255	76,02	3-butenil isotiocianato	986	982
Hojas	3	3,849	2,23	<i>trans</i> -2-Hexen-1-ol	861	862
Flores	3	4,318	5,50	Alil isotiocianato	894	892
Tallos	3	8,903	16,61	Dialil disulfuro	1085	1078
Hojas	4	6,257	50,57	3-butenil isotiocianato	986	982
Flores	4	6,188	42,60	3-butenil isotiocianato	984	982
Tallos	4	20,859	1,70	Feniletil isotiocianato	1465	1465
Hojas	5	8,913	12,88	Dialil disulfuro	1085	1078
Flores	5	8,886	11,76	Dialil disulfuro	1084	1078

Leyenda: IK: Índice de Kovats; NIST: National Institute of Standards and Technology at the U.S. Department of Commerce

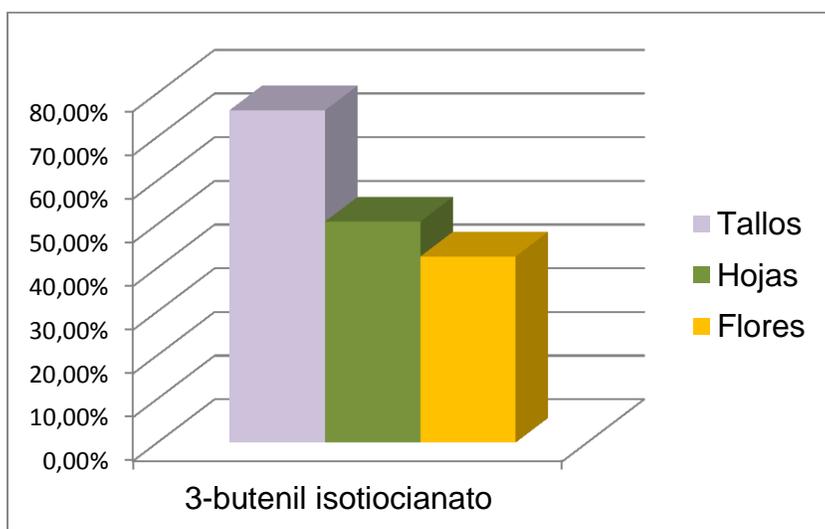
En las hojas se identificaron 5 compuestos, los cuales equivalen al 100 % encontrándose como mayoritarios el 3-butenil isotiocianato (50,57 %), *trans*- 3-hexen-1-ol (31, 05 %) y el dialil disulfuro (12,88 %).

En las flores se identificaron 5 compuestos, los cuales equivalen al 94,5% en el área, encontrándose los siguientes componentes volátiles mayoritarios: 3-butenil isotiocianato (42,60 %), 2-metil-5-hexenonitrilo, *trans*- 3-hexen-1-ol (17, 63 %) y el dialil disulfuro (11,76 %).

En los tallos se identificaron 4 compuestos, los cuales equivalen al 100% en el área, encontrándose los siguientes compuestos mayoritarios: 3-butenil isotiocianato (76,02 %) y Dialil disulfuro (16,61 %)

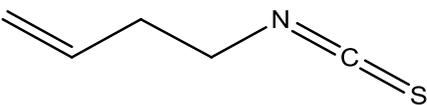
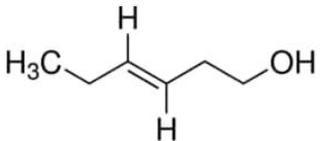
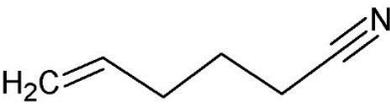
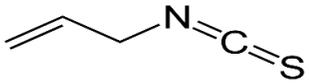
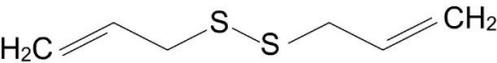
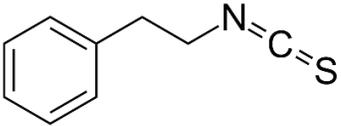
Por otra parte, el componente mayoritario en las tres partes de la planta, fue el 3-butenil isotiocianato, encontrándose en mayor proporción en los tallos (76,02 %), seguido por las hojas (50,57 %) y finalmente en las flores, quien obtuvo el menor porcentaje (42,60 %) (ver Gráfica 2).

Gráfica 2. Comparación de 3-butenil isotiocianato presente en los aceites esenciales de las diferentes partes especie *Brasica napus* L



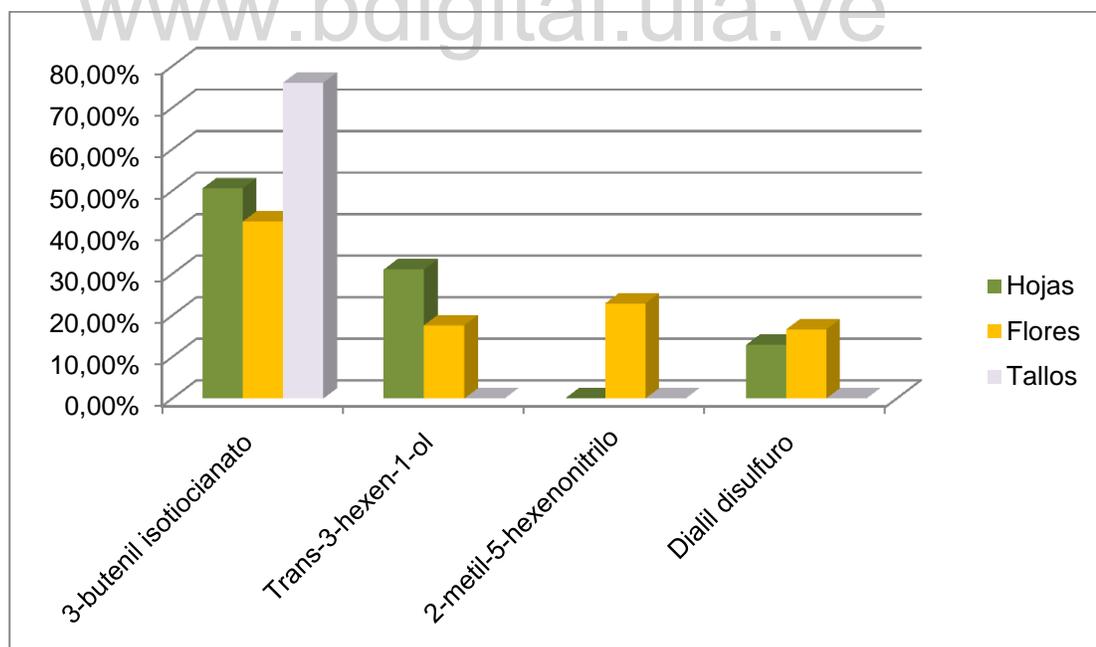
En la tabla 10, se puede observar las estructuras de los componentes volátiles encontrados en cada uno de los aceites esenciales de las diferentes partes de la especie *Brassica napus* L.

Tabla 10. Estructuras de los componentes volátiles encontrados en el aceite esencial de las hojas, flores y tallos de *B. napus* L.

Compuesto	Estructura	Parte de la planta
3-butenil isotiocianato		Hojas, flores y tallos
<i>trans</i> -3-hexen-1-ol		Hojas y flores
<i>trans</i> -2-hexen-1-ol		Hojas
2-metil-5-hexenonitrilo		Hojas, flores y tallos
Alil isotiocianato		Flores
Dialil disulfuro		Hojas, flores y tallos
Feniletil isotiocianato		Tallos

En los resultados de la composición química de los aceites esenciales de la especie *B. napus* L, se determinaron compuestos variados, el mayoritario fue 3-butenil isotiocianato, que se encontró presente en las tres partes de la planta en estudio: tallos (76,02 %), hojas (50,57 %) y flores (42,60 %); seguido por *trans*-3-hexen-1-ol presente en las hojas (31,05 %) y flores (17,63 %). Otros compuestos también se hicieron presentes en las diferentes partes de la planta con % de áreas considerables como el caso del 2-metil-5-hexenonitrilo en flores (22,51 %); dialil disulfuro en hojas (12,88 %), flores (11,76 %) y tallos (16,61 %) como se puede observar en la gráfica 3, los compuestos mayoritarios presentes en los aceites esenciales de las hojas, flores y tallos en el eje de las X y en el eje de las Y los porcentajes de área.

Grafica 3. Compuestos mayoritarios presentes en los aceites esenciales de *B. napus* L.



Discusión de la composición química del aceite esencial de *Brassica napus* L

Los aceites esenciales del género *Brassica* se han estudiado por la gran cantidad de compuestos volátiles que contienen, metabolitos secundarios que les pueden proporcionar a las plantas propiedades beneficiosas o medicinales. En esta investigación los aceites esenciales de hojas, flores y tallos de *Brassica napus* L fueron extraídos, resultando compuestos azufrados (isotiocianatos), compuestos nitrogenados (nitrilos) y alcoholes, en consecuencia con estos resultados podemos determinar una similitud con los isotiocianatos observados en el género *Brassica*, como lo mencionaron Wieczorek y Jeleń (2019) en su análisis a la composición volátil de 15 cultivares de *Brassica* (cinco coles de Bruselas, cuatro colinabos, tres coliflores y tres brócoli), los grupos de compuestos más abundantes fueron los componentes de azufre (incluidos los isotiocianatos bioactivos), los nitrilos, los aldehídos y los alcoholes, de allí que ésta investigación lo corrobora con la presencia de estos compuestos que resultaron del aceite esencial de las diferentes partes de la planta.

Por otra parte, con los resultados de ésta investigación se puede determinar una similitud con el trabajo de Saka y cols (2017), quienes en sus resultados publicaron varios componentes: alcoholes, aldehídos, ésteres, cetonas, compuestos terpénicos, de nitrógeno y de azufre, totalizando 38 y 41 compuestos en el aceite esencial de hojas y de raíz de *Brassica rapa* var. *rapifera*, respectivamente. Los compuestos nitrogenados fueron los principales componentes volátiles en las hojas y los compuestos de azufre en el aceite esencial de raíz. Se encontraron diferencias cualitativas y cuantitativas entre los aceites esenciales de *B. rapa* var. *rapifera* recolectados de diferentes lugares, utilizando el método de hidrodestilación para la extracción del aceite esencial y cromatografía de gases/espectrometría de masas para la determinación de compuestos.

Es importante destacar que en investigaciones anteriores, no hay indicios en la literatura de la composición química de las hojas, flores y tallos de la especie *Brassica napus* L, pero de la semilla se encuentran estudios, como el presentado por Park, Chung y Ahmad (2012), que estudiaron el aceite esencial de la semilla de *Brassica napus*, lograron identificar componentes similares a la presente investigación, tales como: 1-buteno 4-isotiocianato o 3--butenil isotiocianato (4,8%) pero en menor proporción a diferencia de éste estudio que fue el componente mayoritario presentado en el aceite esencial de las tres partes de la especie *B.napus*; además de presentarse el 2-fenil etilisotiocianato (39,2%) con un porcentaje alto en comparación con los tallos estudiados en ésta investigación en donde el porcentaje fue bajo (1,70%). En ambas investigaciones utilizaron el método de hidrodestilación para la extracción del aceite esencial de *Brassica napus* y analizaron la composición química del aceite esencial mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas al igual que la presente investigación.

Resultados de la actividad antibacteriana

La evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Brassica napus* L (10 µL del aceite puro) de la presente investigación, manifestó actividad en algunas bacterias, más que en otras. Empleando el método de difusión en agar con discos de Kirby-Bauer, se observó inhibición del desarrollo de crecimiento en 5 bacterias, de las cuales 2 fueron Gram positivas (*S. aureus* y *E. faecalis*) y 3 fueron Gram negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*).

Este resultado se basó en la relación que existe entre los componentes químicos de la planta con la actividad antibacteriana, tomando en cuenta que la planta se dividió en tres secciones, extrayendo por

separado los aceites esenciales de las tres partes (hojas, flores y tallos), presentando mayor actividad antibacteriana el aceite esencial de las hojas, seguido por el de las flores y finalmente el aceite de los tallos.

De allí que, la actividad antibacteriana de *Brassica napus* L podría estar relacionada con la presencia de sus componentes, basándose en los resultados de los aceites esenciales de cada una de las partes de la planta y en donde el componente mayoritario fue el 3-butenil isotiocianato en hojas (50,57%), en flores (42,60 %) y tallos (76,02%); y *trans*-3-hexen-1-ol (31,05 %) en hojas y en flores (17,63%). De acuerdo a esta explicación se le atribuye la actividad antibacteriana de los aceites esenciales a los componentes que predominaron como fueron los compuestos azufrados y alcoholes, los cuales podrían actuar de manera sinérgica.

El comportamiento de los aceites frente a las bacterias, se estuvieron monitoreando con un control positivo de antibióticos conocidos y utilizados comúnmente para cada bacteria en investigaciones científicas o en tratamientos médicos para infecciones asociadas con estas bacterias.

- Gram positivas: para *S. aureus* se utilizó como control positivo Eritromicina de 15 mg, el aceite esencial de las hojas fue activo para ésta bacteria con un diámetro en el halo de inhibición de 25 mm tanto para las hojas, como para las flores y el tallo de 18 mm. En *E. faecalis* se utilizó la Ampicilina de 10 mg y el aceite esencial de las flores fue activo con un diámetro de 18 mm, mientras que la actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas fue de 14 mm y el de los tallos de 10 mm.
- Gram negativas: para el control positivo de *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, se utilizó Piperacilina de 100 mg. Los diámetros de los halos de inhibición en la bacteria *E. coli*, del aceite de los tallos fue de 21 mm, las hojas de 20 mm, mientras que las flores de 17 mm. Para *P. aeruginosa*, se

observaron halos de inhibición más pequeños, en comparación con las otras bacterias en estudio, tal es el caso del aceite esencial de las hojas que dio un halo de inhibición de 10 mm, aceite de las flores y los tallos 9 mm. Para la bacteria *K. pneumoniae*, se observó una buena inhibición de los tres aceites esenciales que presentaron halos de inhibición grandes alcanzando diámetros de 30 mm.

En la tabla 11, se observan los resultados de los aceites esenciales frente a las bacterias ATTC (anexos: 4,5,6,7,8) y su relación con el control positivo.

Tabla 11. Resultados de la actividad antibacteriana

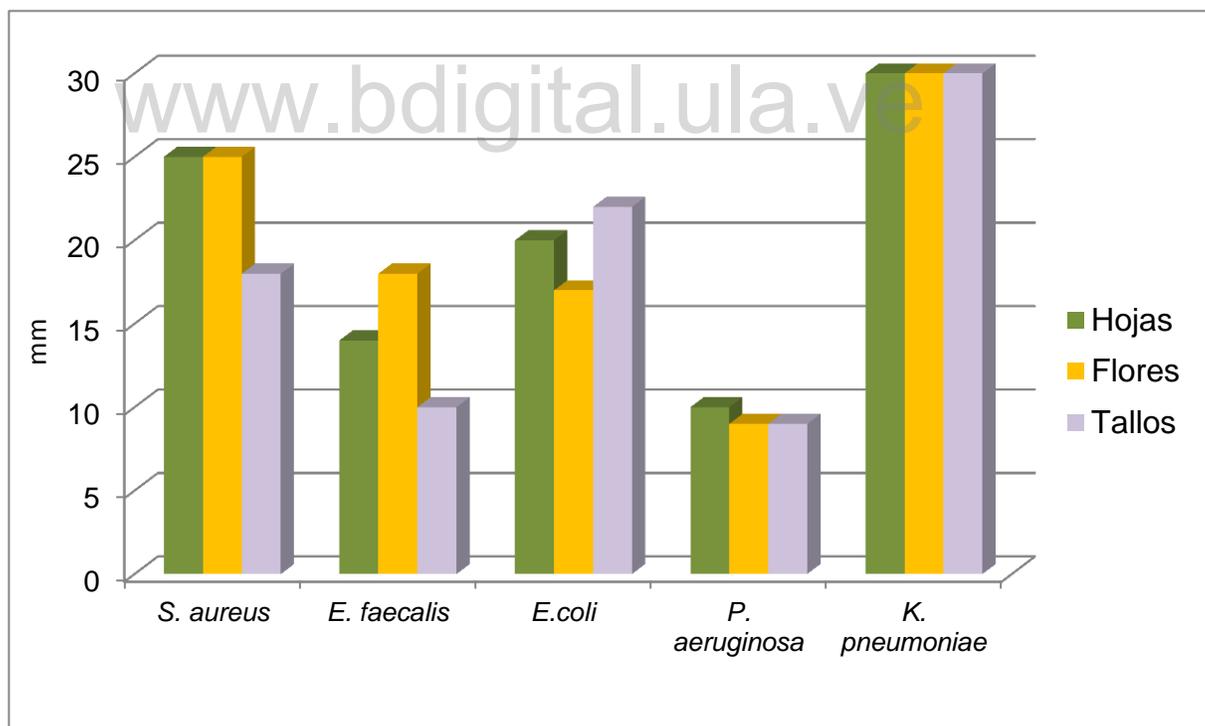
<i>Brassica napus</i> L	<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923	<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC29212	<i>Escherichia coli</i> ATTC 25922	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC23357
Hojas	25 mm	14 mm	20 mm	10 mm	30 mm
Flores	25 mm	18 mm	17 mm	9 mm	30 mm
Tallos	18 mm	10 mm	22 mm	9 mm	30 mm
Control positivo	Eritromicina 15 mg (26 mm)	Ampicilina 10 mg (17 mm)	Piperacilina 100 mg (21 mm)	Piperacilina 100 mg (18 mm)	Piperacilina 100 mg (32 mm)

Al observarse los halos de inhibición alrededor de los discos impregnados con el aceite esencial de las diferentes partes de la planta *B. napus* L en el agar inoculado con la bacteria, esto nos confirma la actividad antibacteriana, observándose una clara inhibición del crecimiento bacteriano, en algunos casos los diámetros en mm resultaron ser amplios en algunas

bacterias, demostrando una efectiva actividad antibacteriana como en el caso de *K. pneumoniae*, que se presentaron halos de inhibición de 30 mm.

En la gráfica 4, se puede comparar la efectividad antibacteriana de cada uno de los aceites esenciales frente a cada bacteria, demostrándose una gran diversidad y rangos en relación a los resultados de los diámetros de los halos. En el eje de las Y, se aprecian los halos de inhibición en mm de los aceites esenciales de la especie *B. napus* L y en el eje de las X, se observan las bacterias en estudio.

Gráfica 4. Actividad antibacteriana de los aceites esenciales de las hojas, flores y tallos de *B. napus* frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas.



Estos resultados demuestran que hay sensibilidad de la mayoría de bacterias ensayadas ante los tres aceites y para *P. aeruginosa* hubo actividad antibacteriana, pero se midieron halos de inhibición más pequeños en comparación con los halos medidos en otras bacterias Gram negativas en estudio. También fueron comparados con antibióticos conocidos (sus zonas de inhibición en diámetros) y sus interpretaciones estandarizadas para el 2021 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio o CLSI (sus siglas en inglés).

En la tabla 12, se puede observar un cuadro comparativo con los diámetros de los halos de inhibición formados por los discos impregnados con los aceites esenciales estudiados de la especie *Brassica napus* L (hojas, flores y tallos) en los agares previamente inoculados con las bacterias ATTC, con respecto a la interpretación de categorías y zona de diámetro establecidas por CLSI, frente a algunas bacterias estandarizadas y conocidas, en donde se pudieron apreciar las diferencias y buenos resultados entre los diámetros de los halos inhibición con respecto a los antibióticos utilizados en la investigación como controles positivos.

Satisfactoriamente en analogía con la gran diversidad de plantas pertenecientes a la Familia Brassicaceae y al Género *Brassica*, la especie estudiada (*Brassica napus* L) demostró una efectiva actividad antibacteriana frente a cinco bacterias, pero con *Pseudomonas aeruginosa*, fue débil, posiblemente debido a que esta bacteria es resistente y en la actualidad ha manifestado gran resistencia a múltiples antibióticos.

Tabla 12. Tabla comparativa con la interpretación de los diámetros de los halos por CLSI.

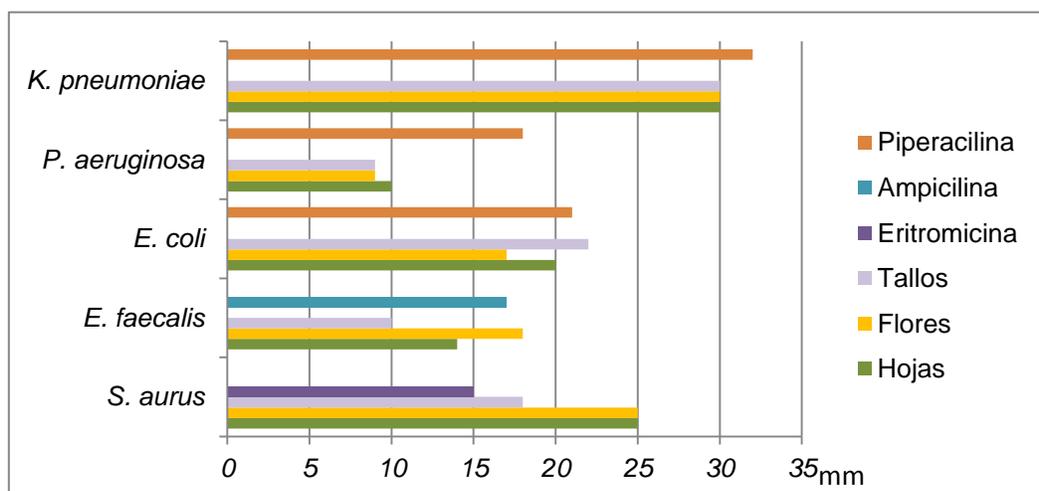
Bacteria	Antibiótico	S	I	R	AEH	AEF	AET
<i>Staphylococcus aureus</i> ATTC 25923	Eritromicina 15 mg	≥23	14-22	≤13	25	25	18
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Ampicilina 10 mg	≥17	15	≤16	14	18	10
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATTC 27853	Piperacilina 100 mg	≥21	15-20	≤14	10	9	9

Leyenda: Adaptado de CLSI. S: sensible; I: intermedio; R: resistente.

AEH: Aceite esencial hojas; AEF: Aceite esencial flores; AET: Aceite esencial tallos

Como se puede observar en la gráfica 5 los antibióticos (controles positivos) en relación a la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de la especie *B. napus* L.

Gráfica 5. Comparación de antibióticos y aceites esenciales de la especie *B. napus* L.



Discusión de los resultados de la actividad antibacteriana

Una de las actividades biológicas más importantes, es la actividad antimicrobiana y en el género de las *Brassicas* en el transcurso del tiempo ha demostrado buena actividad en algunas de sus especies, como lo mencionan en la investigación realizada por Reyes y cols (2016), que determinaron la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Brassica nigra*, que fue evaluado contra *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella enteritidis*, con el método de concentración inhibitoria mínima (CIM). Las CIM de los aceites esenciales evaluados variaron de 0,05 a 0,50 % (vol / vol), resultando que el aceite esencial de mostaza (*Brassica nigra*) fue el más efectivo, probablemente debido a la presencia del isotiocianato de alilo, identificado como su principal componente. La composición química de los aceites esenciales se analizó mediante cromatografía de gases-espectrometría de masas. Estos resultados se pueden comparar con esta investigación, debido a que en la presente investigación se encuentra la presencia de un isotiocianato el 3-butenil isotiocianato en hojas (50,57 %), flores (42,60 %) y tallos (76,02 %) identificado también como su principal componente en cada una de las partes de la especie *B. napus*.

Cabe destacar que solo se ha investigado la actividad antibacteriana del aceite esencial de las semillas de *B. napus*, como lo hicieron Jabbar y cols (2021), quienes estudiaron el aceite esencial de las semillas de *B. napus*, analizaron y demostraron actividades antimicrobianas contra varias bacterias Gram positivas, Gram negativas y *Candida albicans*, las bacterias Gram positivas, *Streptococcus pyogenes* y *Streptococcus agalactiae*, mostraron menores potenciales de resistencia (CIM= 0,78 %, 3,125 % respectivamente) (CBM=1,36 %, 6,25 % respectivamente) a los aceites esenciales en comparación con *Staphylococcus aureus*. *Escherichia coli*

mostró mayor sensibilidad (6,25 % y 12,5 % para CIM y CBM, respectivamente) que *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa* a los aceites de semillas de *B. napus*. Las bacterias Gram positivas fueron más sensibles a los aceites esenciales probados que las bacterias Gram negativas al igual que el presente estudio pero utilizando los aceites esenciales de las diferentes partes de la especie *B. napus* L.

Asímismo, Ahuja y cols (2011) en una investigación analizaron la semilla de *Brassica napus* L y confirmaron la presencia de los isotiocinatos y otros componentes como son los glucosinolatos presentes en la semilla de colza convencional y que son potencialmente tóxicos. Los glucosinolatos son tioéteres, cuya estructura química incluye una β -D-tioglucoosa, y una cadena lateral alifática, aromática o indólica (R), la cual determina diferencias en sus productos de hidrólisis y en la actividad biológica. En ésta investigación se determinó un compuesto en común y mayoritario presente en las diferentes partes de la planta como lo fue el 3-butenil isotiocianato, al cual se le puede atribuir en parte la actividad antibacteriana, según la investigación de Ahuja y cols sobre los isotiocinatos y glucosinatos.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

- Se obtuvieron los aceites esenciales de los tallos, hojas y flores de la especie *Brassica napus* L, resultando con mayor rendimiento el aceite esencial de las hojas (0,058%), seguido por el de las flores (0,048%) y finalmente el de los tallos (0,041%).

- La identificación de los componentes químicos de los aceites esenciales de las tres partes de *Brassica napus* L fue mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y se observaron varios compuestos mayoritarios, entre ellos se encuentran, 3-butenil isotiocianato en tallos (76,02 %), hojas (50,57 %) y flores (42,60 %); *trans*-3-hexen-1-ol en hojas (31,05 %) y flores (17,63 %); dialil disulfuro en tallos (16,61 %), hojas (12,88 %) y flores (11,76 %); 2-metil-5-hexenonitrilo en flores (22,51 %).

- Se demostró la actividad antibacteriana de los tres aceites esenciales (hojas, flores y tallos) de la especie *Brassica napus* L frente a cepas bacterianas (ATTC). Se observó una muy buena actividad antibacteriana frente a bacterias Gram positivas como en *S. aureus*, con diámetros en el halo de inhibición que oscilan entre 25 mm y 18 mm y en *E. faecalis* con halos de inhibición entre 18 mm y 10 mm. Con relación a las bacterias Gram negativas, se observaron excelentes resultados, tomando en cuenta su gran

resistencia en la actualidad, en *K. pneumoniae*, se observó actividad antibacteriana con diámetros de 30 mm para los tres aceites esenciales; en *E. coli*, el halo de inhibición osciló entre 21 mm y de 17 mm y para *P. aeruginosa* se midieron halos pequeños entre 10 mm y 9 mm. La actividad antibacteriana de *Brassica napus* L podría estar relacionada con la presencia de sus componentes mayoritarios como los azufrados, nitrogenados y alcoholes. Se podría considerar una sinergia entre el isotiocianato y el alcohol, presente en hojas y flores, quienes demostraron mejor actividad frente a algunas cepas bacterianas.

- En esta oportunidad se estudiaron y analizaron los aceites esenciales de tres partes de la especie *Brassica napus* L por separado (hojas, flores y tallos), que no se habían estudiado anteriormente, con un extraordinario resultado positivo, siendo la primera vez que se realiza éste tipo de estudio. Además de ratificar la actividad antibacteriana *B. napus*, que se había presentado solo en el aceite esencial de sus semillas, por lo que se podría considerar a ésta especie como una buena alternativa natural para combatir enfermedades bacterianas.

Recomendaciones

- Continuar con estudios en nuestro país de la especie *Brassica napus* L, es importante comentar que es señalada como hierba o maleza y pocos utilizan sus semillas y hojas, por lo general es descartada.
- Difundir más información sobre la planta, debido a que se desconoce mucho de la especie.
- La industria farmacéutica podría plantear la fabricación de antibióticos a base de los componentes de los aceites esenciales de *B. napus* L.

- La evaluación de actividad antibacteriana en otras cepas bacterianas, (como otras especies de *Staphylococcus sp*, *Streptococcus sp*, *Enterococcus sp* y otros bacilos Gram negativos) e intentar comprobar actividad antifúngica
- Otras actividades biológicas, como la antioxidante, así como la toxicidad de los compuestos, efecto citotóxico.

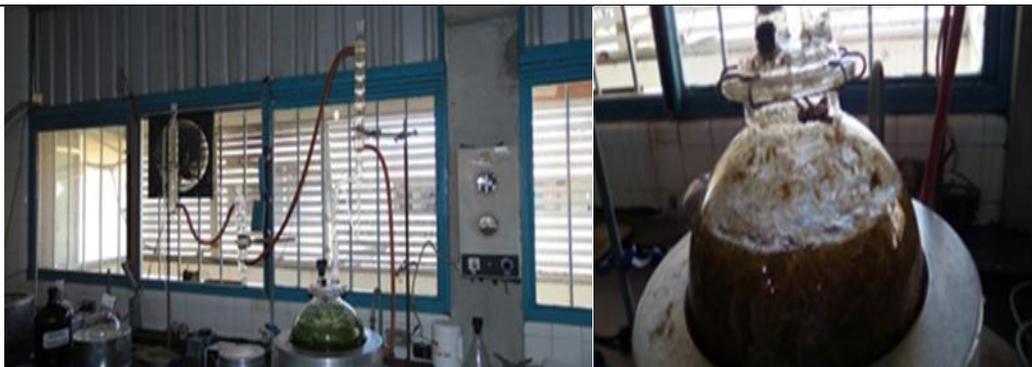
www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

Anexo 1. Recolección de la planta La Culata, Mérida, Venezuela



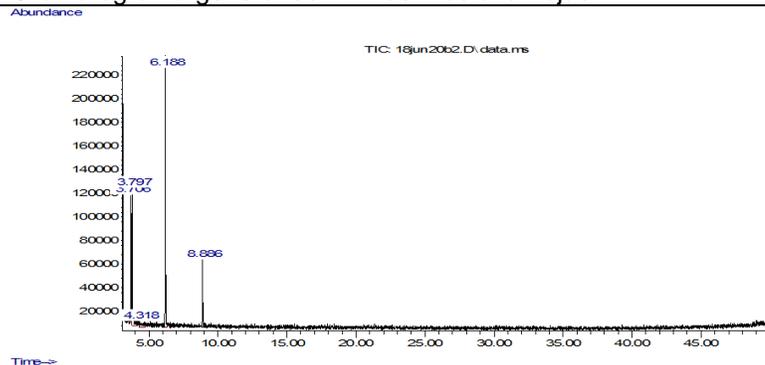
Anexo 2. Equipo de hidrodestilación con trampa Clevenger.



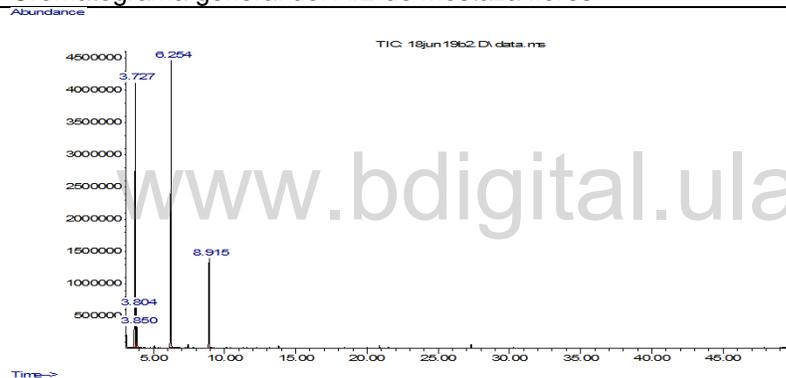
Leyenda: Equipo del Instituto de investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis.
Universidad de Los Andes.

Anexo 3. Cromatograma general de los aceites esenciales (A.E) de mostaza (*Brassica napus*)

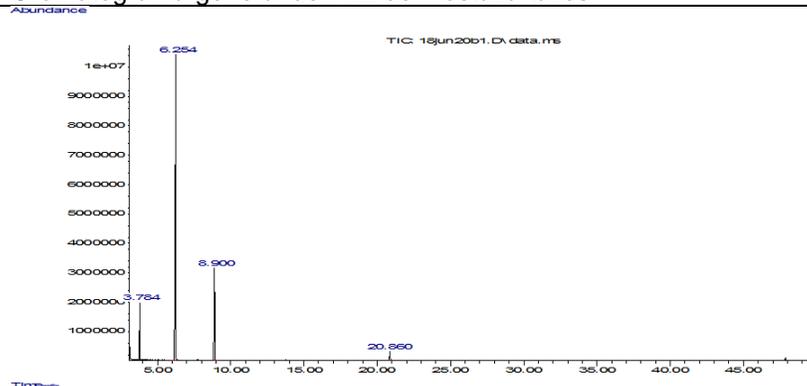
Cromatograma general del A.E de mostaza hojas



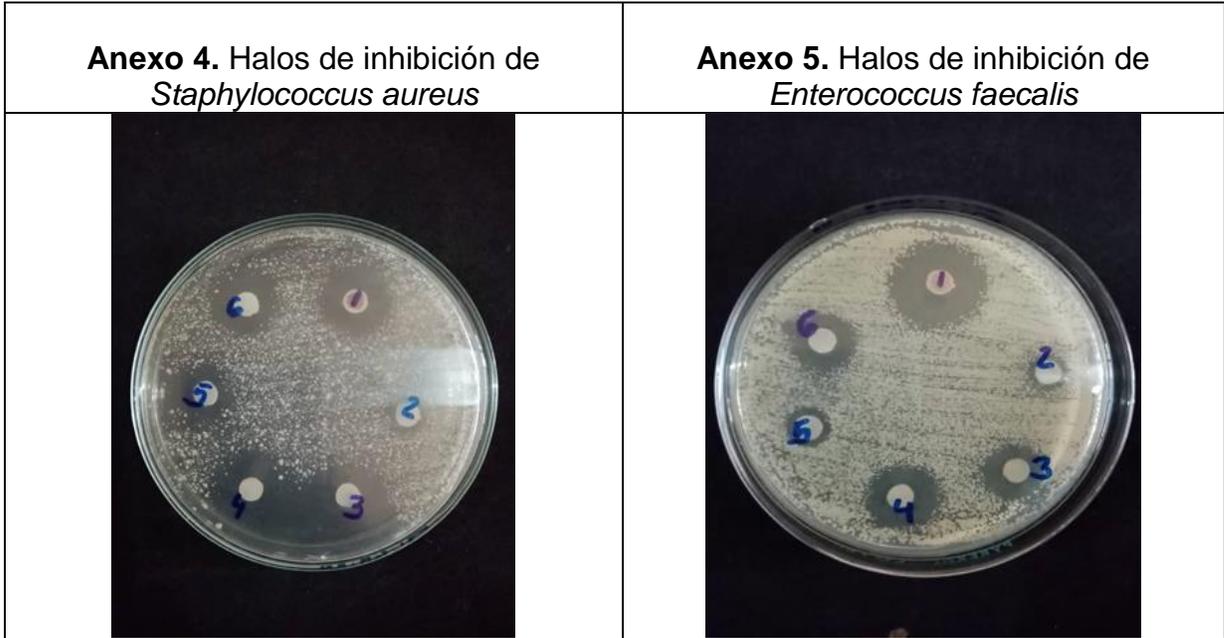
Cromatograma general del A.E de mostaza flores



Cromatograma general del A.E de mostaza tallos

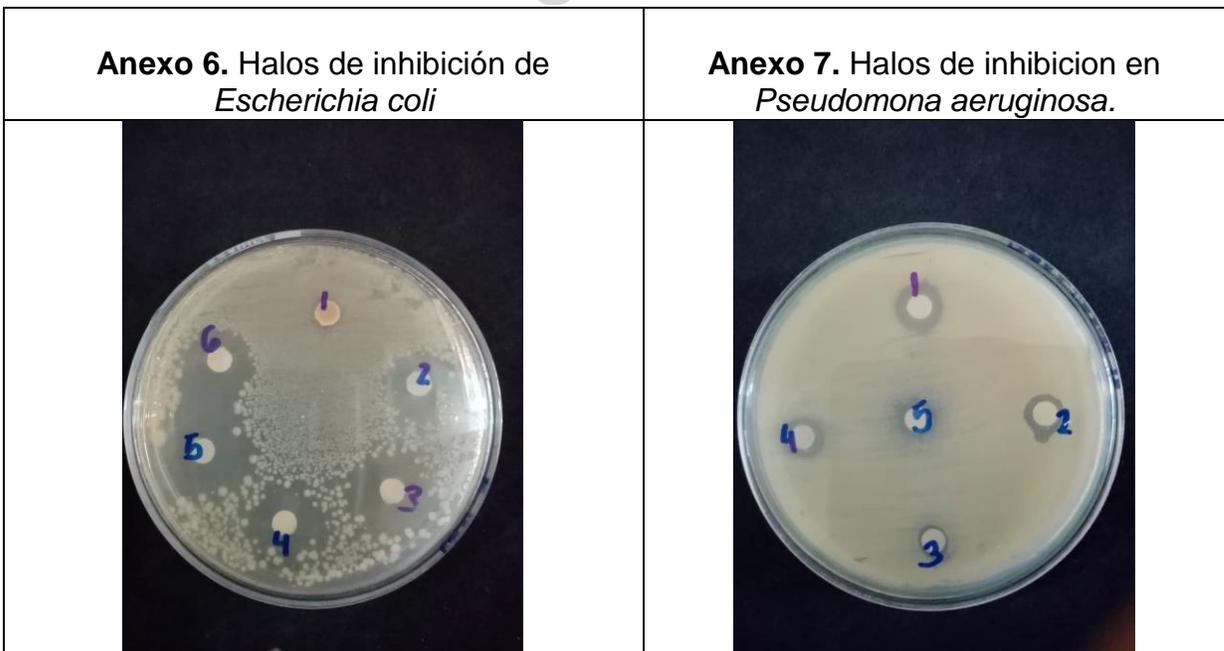


Leyenda: Cromatografo del Instituto de investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes.



Legenda: halo 3: hojas. Halo 4: flores. Halo 5: tallos.

www.bdigital.ula.ve



Legenda: halo 3: hojas. Halo 4: flores. Halo 5: tallos.

Anexo 8. Halos de inhibición de *Klebsiella pneumoniae*



Leyenda: halo 3: hojas. Halo 4: flores. Halo 5: tallos.

Anexo 9. Trabajo en el laboratorio.



Leyenda: Laboratorio de investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis. Universidad de Los Andes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abilleira, R., Cartea, M. E. y Velasco, P. (2008) Degradación desde el campo hasta la mesa. Los glucosinolatos como factor de calidad en las básicas. ***Horticultura, Distribución y Alimentación***, 54–61.
- Adams, RP. (2007). *Identification of Essential Oils Components by Gas Chromatography / Quadrupole Mass Spectroscopy*. Allured Publ. Corp., Carol Stream, IL
- Ahuja, I., Borgen, B., Hansen, M., Honne, B. I., Müller, C., Rohloff, J., Trevor, J., y Bones, A. M. (2011). Oilseed rape seeds with ablated defence cells of the glucosinolate–myrosinase system. Production and characteristics of double haploid MINELESS plants of *Brassica napus* L, ***Journal of Experimental Botany***, 62(14), 4975-4993.
- Ali-Shyayeh, M., Yaghmour, R., Faidi, Y., Salem, K. y Al-Nuri, M. (1998). Antimicrobial Activity of 20 Plants used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. ***Journal of Ethnopharmacology***, 60, 65-271.
- Al-Shehbaz, I. (2010). Brassicaceae. En: *Flora of North America* Editorial Committee (Eds.). *Flora of North America North of Mexico*, Vol. 7. Oxford University Press, New York, Oxford.
- Ayadi, J., Debouba, M., Rahmani, R. y Bouajila, J. (2022). *Brassica* Genus Seeds: A Review on Phytochemical Screening and Pharmacological Properties. ***Molecules***, 27, 6008. [https:// doi.org/10.3390/molecules27186008](https://doi.org/10.3390/molecules27186008)
- Badke, M. R., Budó, M. D., Alvim, N. A., Zanetti, G. D., y Heisler, E. V. (2012). Saberes e práticas populares de cuidado em saúde com o uso de plantas medicinais. ***Texto & Contexto-Enfermagem***, 21(2), 363-370.
- Bandoni, A. (2000). *Los Recursos Vegetales Aromáticos en Latinoamérica. Su aprovechamiento industrial para la producción de aromas y sabores*. CYTED, Editorial de la Universidad Nacional de La Plata. La Plata.
- Bassan, P., Bhushan, S., Kaur, T., Arora, R., Arora, S., y Vig, A. P. (2018). Extraction, profiling and bioactivity analysis of volatile glucosinolates

present in oil extract of *Brassica juncea* var. *raya*. ***Physiology and Molecular Biology of Plants***, 24, 399-409.

Bhandari, S., y Kwak, J. 2015. Chemical composition and antioxidant activity in different tissues of *Brassica* vegetables. ***Molecules***, 20, 1228-1243. doi: 10.3390/molecules20011228.

Boire, N., Riedel, S., y Parrish, N. (2013). Essential oils and future antibiotics: new weapons against emerging 'superbugs'. ***Journal of Ancient Diseases & Preventive Remedies***, 1, 105. Doi:10.4172/2329-8731.1000105.

Borgen, B.H., Thangstad, O., Ahuja, I., Trevor, J. y Magnar, A. (2010). Removing the mustard oil bomb from seeds: transgenic ablation of myrosin cells in oilseed rape (*Brassica napus*) produces MINELESS seeds. ***Journal Experimental Botanical***, 61, 1683-1697. Doi: <http://jxb.oxfordjournals.org/content/61/6/1683.long>.

Bruni, R., Medici, A., Andreotti, E., Fantin, C., Muzzoli, M., Dehesa, M., y Sacchetti, G. (2004). Chemical composition and biological activities of Ishpingo essential oil, a traditional Ecuadorian spice from *Ocotea quixos* (Lam.) Kosterm.(Lauraceae) flower calices. ***Food Chemistry***, 85(3), 415-421. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.019>

Cabral, E. Casco, S. López, E. Miguel, L. Cabaña, A. Ferber, O. Queiroz, L. Martín, S. Salas, R y Cian, D. (2010). *Core Eudicotiledóneas. Clado Rosides, Biotaxonomía de Spermatófitas*. Universidad Nacional del Nordeste - Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Argentina.

Cáceres, A. López, B. González, S. Berger, I. Tada, I. y Maki, J. (1998). Plants used in Guatemala for the treatment of protozoal infections. I- Screening of activity to bacteria, fungi and american trypanosomas of 13 native plants. ***Journal Ethnopharmacology***, 62, 195-202.

Cardoza, V. y Stewart, C. N. (2003). Increased Agrobacterium-mediated transformation and rooting efficiencies in canola (*Brassica napus* L.) from hypocotyl segment explants. ***Plant Cell Reports***, 21, 599–604.

Cerpa, M. (2007). Hidrodestilación de aceites esenciales. Valladolid. (Tesis Doctoral). Valladolid: Universidad de Valladolid. Facultas de Ciencias.

Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente.

- Chauhan, E. S., Tiwari, A., y Singh, A. (2016). Phytochemical screening of red cabbage (*Brassica oleracea*) powder and juice-A comparative study. ***Journal of Medicinal Plants Studies***, 4(5), 196-199.
- Ching, S. (2007). *Origins and diversity of Brassica and its relatives*. Herbariae IR, Plantarum S.1-33.
- Consentino, S. Tuberoso, C. Pisano, B. Satta, M. Mascia, V. Arzedi, E. y Palmas, F. (1999). In vitro antimicrobial activity and chemical composition of and other plant extracts. ***Journal Applied Microbiology***, 86, 985–990. Doi: 10.1046/j.1472-765x.1999.00605.x.
- Cooksley, V. (1996). *Aromatherapy: a lifetime guide to healing with essential oils*. Prentice Hall.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. ***Clinical Microbiology Reviews***, 12: 564-582.
- Curtis, H. Schnek, A. y Massarini, A. (2008). *Biología*. 7 Ed. Pd. Editorial: Medica Panamericana.
- De los Ríos, C. Hidalgo, D. Quintero, M. Márquez, G. y Cresente, O. (1999). Estudio preliminar in vitro de la actividad biológica de *Chromolaena voglii* (Robinson) H. Huber. ***Revista de la Facultad de Farmacia***, 36, 2-5.
- Deans, S. G. y Ritchie, G. (1987). Antibacterial properties of plant essential oils. International ***Journal of Food Microbiology***, 5.165-180.
- Dixon, G.R. (2006). Origins and Diversity of Brassica and Its Relatives. In: *Vegetable Brassicas and Related Crucifers*; CABI: Wallingford, UK, pp. 1–33.
- Djilani, A. y Dicko, A. (2012). Nutrition, Well-being and Health. En: J. Bouayed y T. Bohn (Eds.), *The therapeutic benefits of essential oils* (pp.155-78). Croatia.
- Domingo, D. y López-Brea, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. ***Revista Española de Quimioterapia***, 16, 385-393.

- Domínguez, Z. (1973). *Métodos de Investigación Fitoquímica*. D.F, México México: Limusa.
- Dorman, D. y Deans, G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. ***Journal of Applied Microbiology***, 88(2), 308-316.
- Drasar, B. S., & Hill, M. J. (1974). *Human intestinal flora*. Academic Press (London) Ltd., 24/28 Oval Road, London, NW1.
- Evans, W. (1991). *Farmacognosia*. 13 Edición. Editorial Interamericana. México
- Focke, M., Hemmer, W., Valenta, R., Gotz, M. y Jarisch, R. (2003). Identification of oilseed rape (*Brassica napus*) pollen profilin as a cross reactive allergen. ***International Archives of Allergy and Immunology***, 132(2), 116-123.
- Forbes, B., Sahm, D. y Weissfeld, A. (2009). Inhibidores de la síntesis de la pared bacteriana. In Diagnóstico Microbiológico, Eds Rondinone, Argentina: Editorial Médica Panamericana.
- García, A. (2009). Metabolismo secundario de plantas. ***Reduca. Serie Fisiología Vegetal***, 2 (3), 119-145. http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- García, D. (2004). Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. ***Pastos y Forrajes***, 27 (1), 1-12.
- García, Iturrioz, M. (2008). *Guía de Aromaterapia. La salud a través de los aceites esenciales*. 2ª edición. (pp, 6-7). Editorial El Mundo del Bienestar.
- García, R. (2021). *Flora del Valle de Tehuacán-Cuicatlán*. Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Gómez, N., Miralles, D., Mantese, A., Menéndez, Y y Rondanini, D. (2018). Colza: un cultivo con historia en la fauba. ***Revista Agronomía & Ambiente***. 38 (1): 2314-2243.
- Gómez-Campo, C. (Ed.). (1999). *Biology of Brassica coenospecies*. Elsevier.

- Granados-Chinchilla, F. (2017). A review on phytochemicals (including essential oils and extracts) inclusion in feed and their effects on food producing animals. ***Journal of Dairy & Veterinary Sciences***, 3(4):555620. Doi:10.19080/JDVS.2017.03.555620.
- Guerenam, M. (2020). Cultivos de Cole y Otras Brassicaceae (Crucíferas): Producción Orgánica. ***ATTRA Sustainable Agriculture***. Doi: <https://attra-dev.ncat.org/wp-content/uploads/2022/08/cultivos-de-cole-y-otras-brassicaceae.pdf>
- Hernández Moreno, L. V., Pabón Baquero, L. C. y Hernández-Rodríguez, P. (2021). Estudio fitoquímico y actividad antimicrobiana de plantas medicinales empleadas para el control de infecciones urinarias. ***Revista Facultad De Ciencias Básicas***, 16(1), 43-56. Doi:10.18359/rfcb.4896.
- Hernández, R., Fernández, C., y Baptista, P. (2014). *Metodología de la Investigación*. México, México: Interamericana Editores, S.A.
- Hurtado J. (2010). El “para qué”, o los objetivos de la Investigación. En: *El proyecto de investigación. Comprensión holística de la Metodología y la Investigación*. 6ta. Ed. Caracas, Bogotá: Ediciones Quirón.
- Iriarte, L. y Valetti, O. (2008). *Cultivo de Colza*. Chacra Experimental Integrada Barrow. Tres Arroyos, Argentina: Convenio MAAyP-INTA.
- ITTS. (Integrated Taxonomic Information System – Report). (2014). https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=22669#null
- Jabbar, A., Chiman, H., Sazan, M. y Bahar, J. (2021). Chemical Differentiation and Antimicrobial Potential of Four *Brassica napus* L Seed Oils. ***Iraqi Journal of Science***, 62 (12), 4597-4613. <https://doi.org/10.24996/ij.s.2021.62.12.1>.
- Jahangir, M., Kim, H., Choi, Y. y Verpoorte, R. (2009). Health-Affecting Compounds in Brassicaceae. ***Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety***, 8(2), 31-43.
- Judd, S., Campbell, C., Kellogg, E., Stevens, P. y Donoghue, M. (1999). *Plant Systematics a Phylogenetic Approach*. USA: Sinauer Associates, Inc. Publishers.

- Kallio, H., Johansson, A., y Oksman, P. 1991 Composition and development of turnip rapeseed (*Brassica campestris*) oil triacylglycerols at different stages of maturation. **Journal Agriculture. Food Chemical**, 39 (10), 1752–1756. <https://doi.org/10.1021/jf00010a011>
- Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia Estudios de las Drogas y Sustancias Medicamentosas de Origen Natural*. Barcelona, España: Omega.
- Longaray, A., Moshen-Pistorello, I., Artico, L., Atti-Sefarini, L., y Echeverrigaray, S. (2007). Antibacterial activity of the essential of *Salvia officinalis* L. and *Salvia tribola* cultivated in south of Brazil. **Food Chemistry**, 100, 603-608.
- López, M.T. (2004). Los aceites esenciales. **O F F A R M. Revista de la Oficina de Farmacia**, 23(7), 88-89-90
- Martínez, M., y Hernández, L. (2013). Flora del Bajío y de Regiones Adyacentes. *Familia Cruciferae. Instituto de Ecología AC Centro Regional del Bajío Pátzcuaro, Michoacán, México.*
- Mejía B., Palou E., y López A. (2015). Composition, Diffusion, and Antifungal Activity of Black Mustard (*Brassica nigra*) Essential Oil When Applied by Direct Addition or Vapor Phase Contact. **Journal of Food Protection**, 78 (4), 843-848. <https://doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-14-485>
- Miyazawa, M., Nishiguchi, T., y Yamafuji. C. (2005). Volatile components of the leaves of *Brassica rapa* L. var. *perviridis* Bailey. **Flavour and Fragrance Journal**, 20 (2), 158-160. <https://doi.org/10.1002/ffj.1335>.
- Miyazawa, M., y Kawata, J. (2006). Identification of the main aroma compounds in dried seeds of *Brassica hirta*. **Journal Natural Medicine**, 60, 89–92 <https://doi.org/10.1007/s11418-005-0009-z>
- Molina López, J., Manjarrez Zavala, M., y Zavala J. (2010). *Microbiología, Bacteriología y Virología*. México: Méndez Editores.
- Montoya, G. (2010). *Aceites Esenciales, Una Alternativa de Diversificación Para el Eje Cafetero*. Manizales, Colombia: Universidad Nacional de Colombia.
- Muñoz F. 1996. *Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado*. Edición reimpressa. Editorial Mundi-Prensa Libros.

- Murray, P. Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica*. Sexta edición. España: Elsevier, S.L.
- NIST: National Institute of Standards and Technology. U. S. Department of Commerce. Libro del Web de Química del NIST, SRD 69. <https://webbook.nist.gov/chemistry/>
- Noriega Rivera, P. (2009). *Extracción, química, actividad biológica, control de calidad y potencial económico de los aceites esenciales*. La Granja 3 Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad CIVABI, Universidad Politécnica Salesiana, Quito, Ecuador.
- OMS. (2014). <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibi%C3%B3ticos>
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Primera edición. España: Editorial Aiyana ediciones.
- Park, S., Chung, M. y Ahmad, A. (2012). Chemical composition of the essential oil and petroleum ether extract from the seeds of *Brassica napus*. ***Journal of Essential Oil Bearing Plants***, 15,858-863.
- Pascual, D., Pérez, Y., Morales, I., Castellano., I y González E. (2014). Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. ***MEDISAN***, 18(10):1467.
- Prakash, S., Wu, X. y Bhat, S.R. (2012). History, Evolution, and Domestication of *Brassica* Crops. ***Plant Breeding Reviews***, 35,19–82.
- Prats, G. (2006). *Microbiología clínica*. Ed. Médica Panamericana.
- Pumarola, A. Rodriguez-Torres, A. Garcia-Rodriguez, A. Piedrola-Angulo, T. (1995). *Microbiología y parasitología médica*, 2 da edición. Salvat Editores, s. a.
- Ramírez, A. García Amor, E. Longa, A. Sánchez, K. Nieves, M. Velasco, J. Araque, M. y Mosqueda, N. (2006). *Manual práctico de bacteriología general*. Publicaciones Vicerrectorado Académico PVA ULA, Mérida.
- Rangel, D., García, I., Velasco, J., Buitrago, D. y Velazco, E. (2001). Actividad antimicrobiana de los extractos etanólico, acetónico y

- acuoso de *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers. **Revista de la Facultad de Farmacia**, 42, 43 - 46.
- Rao, V. y Pandey, D. (2007). *Extraction of essential oil and its applications*. (PhD.2007). National Institute of Technology Rourkela, India.
- Reardon, J. 2007. *Plantas de hojas comestibles*. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services. Food and Drug Protection Division. Raleigh, NC, USA.
- Reyes, F. López, A. y Palou, E. (2016). Antimicrobial Activity of Individual and Combined Essential Oils against Foodborne Pathogenic Bacteria. **Journal of Food Protection**, 79 (2),309-315.
- Ringuelet, J. y Viña, S. (2013). *Productos Naturales Vegetales*. Universidad Nacional de La Plata. Argentina: Editorial de la Universidad de La Plata.
- Rodríguez Álvarez, M., Alcaraz Meléndez, L. y Real Cosío, M. (2012). Procedimientos para la Extracción de Aceites Esenciales en Plantas Aromáticas. Proyecto SAGARPA-CONACYT.
- Romero Cabello, R. Microbiología y parasitología humana: Bases etiologicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Editorial: Médica Panamericana.
- Rosa, E., Heaney, R., Fenwick, G., y Portas, C. (1997). Glucosinolates in crop plants. **Horticultural Reviews**, 19, 99- 215.
- Ruiz C., Medina G.,González A., Flores L., Ramírez O., Ortiz T., Byerly M., y Martínez P. (2013). *Requerimientos Agroecológicos de Cultivos*. 2ª edición. Libro Técnico. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.
- Saka, B., Djouahri, A., Djerrad, Z., Terfi, S., Aberrane, Sabaou, N., Baaliouamer, A., y Boudarene, L. (2017). Chemical Variability and Biological Activities of *Brassica rapa* var. *rapifera* Parts Essential Oils Depending on Geographic Variation and Extraction Technique. **Chemistry and Biodiversity**, 14 (6). <https://doi.org/10.1002/cbdv.201600452>
- Sánchez Llambí, M. (2016). *Los Aceites Esenciales: La Perfecta Medicina De La Naturaleza*. Editorial: Balboa Press.

- Saz, P., Ortíz, M. (2007). Aromaterapia. **Revista de Farmacia Profesional**, 21 (5), 64-68.
- Seija V., Vignoli R. (2008). *Temas de Bacteriología y Virología Médica*. Universidad de la República. Oficina del Libro FEFMUR, Montevideo.
- Senatore, F. (2000). *Aceites Esenciales, Proveniencia, Extracción y Análisis Químico*. Italia: Ed. EMSI ROMA. Primera Edición.
- Serrano, M., López, M., y Espuñes, T. (2006). Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal. **Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas**, 37(4), 58-68.
- Shabana, M. M., Fathy, F. I., Salama, M. M., & Hashem, M. M. (2013). Cytotoxic and Antioxidant Activities of the Volatile Constituents of *Brassica tournefortii* Gouan: Growing in Egypt. **Cancer Science & Research**, 1, 1-4.
- Stevens, P.F. (2001). Angiosperm Phylogeny Website. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Sudharameshwari, K., y Ayshwarya M. (2017) Evaluation of antiulcerogenic activity of methanol extracts of *Brassica oleracea* var. *capitata* Rubra on albino rat gastric ulceration. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, 10(3),314-17.
- Talavera-Bianchi, M., Adhikari, K., Chambers IV, E., Carey, E. E., & Chambers, D. H. (2010). Relation between developmental stage, sensory properties, and volatile content of organically and conventionally grown pac choi (*Brassica rapa* var. *mei* Qing Choi). **Journal of Food Science**, 75(4), S173-S181.
- Tripodi, G., Verzera, A., Dima, G., Conduurso, C., & Ragusa, S. (2012). *Brassica fruticulosa* Cyr. and *Brassica incana* Ten. (Brassicaceae) as Mediterranean traditional wild vegetables: A valuable source of bioactive compounds. **Journal of Essential Oil Research**, 24(6), 539-545.
- Turgumbayeva, A., Tileuberdi, N. Zhakipbekov, K., Tulemissov, S., Umurzakhova, G., y Utegenova, G. (2021). Antimicrobial efficacies of *Brassica napus* L. essential oils/ nanoparticles composites. **Journal of Nanostructure**, 11, (3), 524-533. Doi: 10.22052/JNS.2021.03.010.

- Usano-Alemany, J., Paúl, J. P., y Díaz, S. (2014). Aceites esenciales: conceptos básicos y actividad antibacteriana. *Reduca (Biología)*, 7(2).
- Velasco, J., Rojas, J., Salazar, P., Rodríguez, M., y Díaz, T. (2007). Antibacterial Activity of the Essential Oils of *Lippia Oreganoides* Against Multiresistant Bacterial Strains of Nosocomial Origin. ***Natural Product Communications***, 2, (1), 85 - 88.
- Vigan, M. (2010). Essential oils: renewal of interest and toxicity. ***European Journal Dermatology***, 20 (6), 685-92.
- Vit, P. (2004). *Brassica napus* L. Ficha botánica de interés apícola en Venezuela, No. 8 Nabo. ***Revista de la Facultad de Farmacia***, 46 (1).
- Warwick, S. I. (2011). Brassicaceae in agriculture. Genetics and Genomics of the Brassicaceae, 33-65. New York.
- Wieczorek, M.N., Jeleń, H.H. (2019). Volatile Compounds of Selected Raw and Cooked Brassica Vegetables. ***Multidisciplinary Digital Publishing Institute***, 24(3),391. Doi: 10.3390/molecules24030391.
- Yu, J., Jiang, Z., Li, R., y Chan, S. (2003). Chemical composition of the essential oils of *Brassica juncea* (L.) Coss. grown in different regions, Hebei, Shaanxi and Shandong, of China. ***Journal of Food and Drug Analysis***. 11 (1). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.2729>
- Zekaria, D. (2006). Los aceites esenciales, una alternativa a los microbianos. Laboratorio Calier.
- Zi-Tao, J., Rong, L., y Yu-Min, Z. (1999). Composition of Essential Oil of *Brassica juncea* (L.) Coss. ***Journal of Essential Oil Research***, 11 (4), 503-506. <https://doi.org/10.1080/10412905.1999.9701196>. Pages