



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
DR. "ALFREDO NICOLÁS USUBILLAGA DEL HIERRO"**



**ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Baccharis nitida***

(Asteraceae).
www.bdigital.ula.ve

Autor:
María Zurima Muñoz Godoy
C.I.V.19.895.355
Tutora:
Prof. Diolimar Buitrago.

Mérida, octubre de 2021

DEDICATORIA

A **Dios** todo poderoso por iluminar mis pasos y guiar mi camino, por darme salud y fe para creer que todos los sueños se pueden hacer realidad, por darme esperanzas para continuar y fuerzas para no desmayar en los momentos más duros.

A mis padres **José** y **Belkis** los mejores que Dios me pudo dar, gracias por siempre ser grandes ejemplos de trabajo honesto y de corazón, por enseñarme que siempre se puede salir adelante. Los amo con toda mi alma.

A mi esposo y compañero de vida, gracias por siempre estar a mi lado y darme fuerza en cada instante, gracias por cada consejo y apoyarme cuando sentía que no podía más.

A mis hermanas **Maryuri**, **Andreina**, **Teresa** y **María José** por brindarme su apoyo y por dejarme saber que siempre puedo contar con ustedes.

A mis Sobrinas **Valentina** y **Victoria** quienes son mi fuente de motivación e inspiración para superarme día a día y por alegrarme la vida. Dios las bendiga siempre.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por darme vida y salud para salir adelante, por estar siempre a mi lado guiándome en todo momento.

A la ilustre Universidad de Los Andes mi casa de estudio, por instruirme, con calidad y formarme profesionalmente.

Al Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis Dr. Alfredo Nicolás Usubillaga del Hierro perteneciente a la Universidad de Los Andes (ULA) y el personal adscrito a este instituto, por haber prestado sus instalaciones y equipos para llevar a cabo esta investigación.

A la Tutora Profesora Diolimar Buitrago a quien agradezco por toda la paciencia, confianza, tiempo, orientación y consejos implementados para el desarrollo de esta investigación.

A las Profesoras Ysbelia Obregón, Yndra Cordero y Rosa Aparicio por todos sus conocimientos y enseñanzas impartidas para la realización de esta investigación.

A mis padres por ser pilar fundamental de mi vida, por la confianza, el apoyo brindado y el amor que siempre me han dado.

A mis hermanas por su apoyo incondicional, desinteresado y por siempre estar presentes.

A mi esposo quien siempre me ha apoyado, ha creído en mí y me motiva a seguir adelante a pesar de las adversidades.

A Egle por su amistad desinteresada y brindarme su apoyo cuando más lo he necesitado

A mis amigas y amigos por extender sus manos y apoyarme en los momentos difíciles.

ÍNDICE GENERAL

	Pág
VEREDICTO	ii
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I.....	4
EL PROBLEMA.....	4
Planteamiento del Problema.....	4
Justificación e Importancia la Investigación.....	7
Objetivos de la Investigación.....	9
<i>Objetivo General</i>	9
<i>Objetivos Específicos</i>	9
Alcances y Limitaciones de la Investigación.....	10

<i>Alcances de la investigación</i>	10
<i>Limitaciones de la investigación</i>	10
CAPÍTULO II	12
MARCO TEÓRICO	12
Trabajos Previos	12
Antecedentes Históricos o Epistemológicos	16
Bases Teóricas	19
Descripción y distribución geográfica de la familia Asteraceae	19
Descripción y distribución geográfica del género <i>Baccharis</i> ...	21
Composición química del género <i>Baccharis</i>	23
Componentes volátiles del género <i>Baccharis</i>	23
Usos del género <i>Baccharis</i>	23
Distribución geográfica de la especie <i>Baccharis nitida</i>	30
Descripción botánica de la especie <i>Baccharis nitida</i>	30
Usos de la especie <i>Baccharis nitida</i>	31
Aceites esenciales	32
Composición química de los aceites esenciales.....	32
Terpenoides.....	32
<i>Monoterpenos</i>	32
<i>Sesquiterpenos</i>	33
Compuestos aromáticos.....	34

Compuestos de orígenes diversos.....	34
Propiedades físicas de los aceites esenciales.....	35
Localización de los aceites esenciales.....	35
Métodos de extracción de aceites esenciales.....	36
Métodos para determinar los componentes químicos de los aceites esenciales.....	38
Usos de los aceites esenciales.....	42
Bacterias.....	42
Clasificación bacteriana.....	43
Actividad antibacteriana.....	47
Clasificación de agentes antibacterianos.....	48
Resistencia bacteriana.....	52
Mecanismos de resistencia natural.....	53
Mecanismos de resistencia adquirida.....	54
Técnicas para determinar la actividad antibacteriana.....	56
Definición Operacional de Términos.....	60
Producto natural.....	60
Principio activo.....	60
Fitoquímica.....	61
Medicamento.....	61
Operacionalización de las Variables.....	61

Hipótesis.....	65
CAPÍTULO III.....	66
MARCO METODOLÓGICO.....	66
Tipo de Investigación.....	66
Diseño de la Investigación.....	67
Población y Muestra.....	70
<i>Unidad de Investigación.....</i>	<i>70</i>
<i>Selección del Tamaño de la Muestra.....</i>	<i>70</i>
Sistema de Variables.....	70
Instrumentos de Recolección de Datos.....	71
Procedimientos de la Investigación.....	71
Diseño de Análisis.....	81
CAPITULO IV.....	82
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	82
Resultados	82
Resultados de los componentes químicos del aceite esencial de la especie <i>Baccharis nitida</i>	82
Resultados de las pruebas de actividad antibacteriana de la especie <i>Baccharis nitida</i>	90
Discusión.....	91
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	97
Conclusiones.....	97

<i>Recomendaciones</i>	98
BIBLIOHEMEROGRAFIA	99
ANEXOS	111

www.bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Distribución geográfica de la familia Asteraceae.....	19
Figura 2. Especie <i>Baccharis nitida</i>	31
Figura 3. Ejemplo de estructuras monoterpenos.....	33
Figura 4. Ejemplo de estructuras sesquiterpenos.....	34
Figura 5. Diseño de investigación seguido en el trabajo desarrollado	68
Figura 6. Procedimiento empleado en la obtención del aceite esencial de la especie <i>Baccharis nitida</i>	77
Figura 7. Procedimiento empleado para determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie <i>Baccharis nitida</i>	80
Figura 8. Componentes químicos de la especie <i>B. nitida</i> (hojas).....	83
Figura 9. Componentes químicos de la especie <i>B. nitida</i> (flores)...	85
Figura 10. Componentes químicos de la especie <i>B. nitida</i> (tallos)...	87
Figura 11. Componentes mayoritarios del aceite esencial de <i>B. nitida</i>	88

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág
Tabla 1. Tribus de la familia Asteraceae.....	21
Tabla 2. Taxonomía del género <i>Baccharis</i>	22
Tabla 3. Componentes volátiles identificados en el género <i>Baccharis</i> ..	24
Tabla 4. Uso de algunas de las especies del género <i>Baccharis</i>	27
Tabla 5. Operacionalización de la variable independiente.....	63
Tabla 6. Operacionalización de la variable dependiente.....	64
Tabla 7. Resultados de la composición química del aceite esencial de las hojas de la especie <i>B. nitida</i>	82
Tabla 8. Resultados de la composición química del aceite esencial de las flores de la especie <i>B. nitida</i>	84
Tabla 9. Resultados de la composición química del aceite esencial de los tallos de la especie <i>B. nitida</i>	86
Tabla 10. Resultados obtenidos de la actividad antibacteriana del aceite de las hojas en la especie <i>B. nitida</i>	89
Tabla 11. Resultados obtenidos de la actividad antibacteriana del aceite de las flores en la especie <i>B. nitida</i>	90

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Cromatograma realizado al aceite de la especie <i>B. nitida</i> (hojas).....	111
Anexo 2. Cromatograma realizado al aceite de la especie <i>B. nitida</i> (flores).....	111
Anexo 3. Cromatograma realizado al aceite de la especie <i>B. nitida</i> (tallos).....	112
Anexo 4. Zona del páramo donde se recolectó la muestra <i>B. nitida</i>	112
Anexo 5. Recolección de la muestra <i>B. nitida</i>	113
Anexo 6. Especie <i>Baccharis nitida</i>	113
Anexo 7. Proceso de laboratorio para la obtención del aceite.....	114
Anexo 8. Proceso de análisis del aceite de la especie <i>B. nitida</i>	115
Anexo 9. Actividad antibacteriana frente a <i>E. faecalis</i>	116
Anexo 10. Actividad antibacteriana frente a <i>E. coli</i>	116
Anexo 11. Actividad antibacteriana frente a <i>P. aeruginosa</i>	117
Anexo 12. Actividad antibacteriana frente a <i>K. pneumoniae</i>	117
Anexo 13. Actividad antibacteriana frente a <i>S. aureus</i>	118



UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
“DR. ALFREDO NICOLÁS USUBILLAGA DEL
HIERRO”



ESTUDIO DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD
ANTIBACTERIANA DEL ACEITE ESENCIAL DE *Baccharis nitida*
(Asteraceae).

Autora: María Zurima Muñoz Godoy

Tutora: Prof. Diolimar Buitrago

RESUMEN

En la presente investigación se analizó la composición química del aceite esencial de hojas, flores y tallos de la especie *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers., y la actividad antibacteriana del aceite de hojas y flores de la especie mencionada. El análisis de la composición química se hizo mediante el método de Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM), en la cual se identificaron alrededor de 15 compuestos en cada parte de la especie estudiada; entre los compuestos mayoritarios encontrados se pueden mencionar para el aceite de flores: Mirceno 31,15%, Limoneno 19,45%, α -pineno 7,07%, Sabineno 6,35%, Germacreno B 6,11%, β -pineno 5,82% y *trans*-Cariofileno 5,10%; para el aceite en hojas: Mirceno 22,38%, Germacreno B 20,30%, *trans*-Cariofileno 15,67%, Limoneno 5,83% y en menor proporción el *trans*-Ocimeno 3,82% y el aceite en tallos presentó el Mirceno 37,13 %, Limoneno 14,44 %, Germacreno B 7,46%, β -Pineno 4,53% y en menor proporción Terpinen-4-ol 4,32%, β - Ocimeno 3,77% y α -Pineno 3,40%. En relación a la actividad antibacteriana que se realizó mediante el método de Kirby-Bauer en pozo modificado, los resultados indicaron presencia de halos de inhibición del aceite en hojas a un 100% de concentración para las cepas: *S. aureus* (9mm), *K. pneumoniae* (9mm) y *E. faecalis* (7mm) y *P. aeruginosa* (10mm), en relación al aceite de las flores a un 100% de concentración solamente tuvo efectos inhibitorios sobre la bacteria *P. aeruginosa* (8mm), cabe resaltar que para la bacteria *E. coli* no se obtuvo sensibilidad en ninguno de los aceites.

Palabras claves: *Baccharis nitida*, Aceite esencial, Composición química, Actividad antibacteriana.

INTRODUCCIÓN

Las plantas representan gran importancia para la humanidad por los beneficios y aportes que a diario se toman de las mismas. El hombre ha conseguido satisfacer algunas necesidades fundamentales a través del uso de plantas; como alimento, abrigo, casa, fabricación de utensilios y entre muchos otros (Mantilla y Sanabria, 1985) pero también ha descubierto que son capaces de aliviar sus dolencias y en algunos casos, curar sus enfermedades (Carballo, Cortada y Gadano, 2005).

En las últimas décadas, se ha intensificado la investigación científica para extraer y separar sustancias con actividad biológica o terapéutica (Albornoz, 1980). La búsqueda de sustancias con actividades biológicas en fuentes tradicionales como las plantas superiores es de gran importancia porque genera la posibilidad de encontrar metabolitos con actividad antibacteriana y con otras propiedades que permitan su utilización como agentes quimioterapéuticos, desinfectantes, en productos farmacéuticos o en alimentos (Mantilla y Sanabria, 1985).

Actualmente existe una preferencia casi mayoritaria por parte de la población mundial sobre el uso de los productos naturales en el tratamiento y la prevención de muchas enfermedades. Prácticamente todas las culturas del mundo han confiado históricamente en las potencialidades de las plantas medicinales para atender necesidades primarias de salud. Estos productos

han dotado a la industria farmacéutica de muchos de sus compuestos líderes, ya sean extraídos directamente de las fuentes naturales o sintetizadas químicamente (Jassim y Naji, 2003).

Uno de los componentes de la planta en donde se puede encontrar metabolitos con actividad biológica son los aceites esenciales, estos son fracciones líquidas destilables por arrastre con vapor generalmente y por algunas otras técnicas, estos contienen los compuestos que son responsables de darles el aroma a las plantas (Martínez, 2001). Además de esto cumplen dentro de la planta funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros (Ávalos y Pérez, 2009).

Una de las características o propiedades asociadas a los aceites esenciales es la actividad antibacteriana que pueden tener, esto es muy importante para el desarrollo de nuevos antibióticos de origen natural contra los crecientes mecanismos de resistencia que desarrollan algunas bacterias (Molares, Gonzáles, Ladio y Agueda, 2009; Ochoa, Paredes, Bejarano y Silva, 2012; Suzuki, Caneschi, Costa, Fernández y Barboza, 2016 y Chaverri y Ceccio, 2017). En este marco algunos laboratorios e innumerables investigadores se han abocado a la obtención de antimicrobianos a partir de recursos microbiológicos y de plantas medicinales. La utilización de sustancias naturales en el tratamiento de diferentes enfermedades, constituye en la actualidad un desafío en la medicina y se ofrece como una

alternativa, especialmente en aquellas dolencias para las que no existe un remedio adecuado (Domingo y López, 2003).

Es por ello que se propuso estudiar la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers., con el objetivo de identificar el potencial uso de los componentes del mismo para utilización como antibacteriano o para tratamiento de diversas enfermedades.

El proyecto está estructurado en 5 capítulos; el capítulo I (El problema) contiene Planteamiento del Problema, Justificación e Importancia de la Investigación, Objetivos de la investigación, Alcances y Limitaciones de la Investigación. El Capítulo II (Marco teórico) constituido por los Trabajos Previos, Antecedentes Históricos o Epistemológicos, Bases Teóricas, Definición Operacional de Términos, Operacionalización de las Variables y la Hipótesis. Capítulo III (Marco Metodológico), contiene Tipo de Investigación, Diseño de la Investigación, Población y Muestra, Unidad de Investigación, Selección del Tamaño de la Muestra, Sistema de Variables, Instrumento de Recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación, Diseño de Análisis. Capítulo IV (Resultados y Discusión) conformado por los Resultados y las Discusiones obtenidas. Capítulo V (Conclusiones y Recomendaciones) en este último capítulo se encuentran las Conclusiones, Recomendaciones, Biblioherografía y Anexos relacionados con la investigación.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Las infecciones por bacterias en los seres humanos son bastantes recurrentes y graves, esto ocasiona que diariamente se empleen grandes cantidades de antimicrobianos para combatir infecciones ocasionadas por bacterias y otros microorganismos (Gaceta Médica de México, 2015; Embid, 2017).

El desarrollo de resistencia a los antibióticos es un proceso natural e inevitable y esto es así porque los microorganismos son seres vivos que a lo largo de su evolución han desarrollado estrategias que les permiten explorar nuevos nichos y sobrevivir. La Organización Mundial de la Salud (2001) advierte constantemente sobre esta problemática y en su plan de acción contra el crecimiento de la resistencia propone actividades a diferentes niveles, que incluyen: generar y compartir información epidemiológica; aplicación de medidas de prevención de infecciones; optimizar el uso de antibióticos a través del desarrollo de políticas nacionales y globales sobre el consumo y producción de antibióticos; restricciones sobre el consumo de

antibióticos como promotores del crecimiento en ganado, y un uso razonado para el consumo humano, además de estímulos para el estudio y desarrollo en el área (Gaceta Médica de México, 2015).

Este problema representa actualmente gran importancia en los seres humanos, pues son miles los pacientes que adquieren infecciones por este tipo de patógenos y en estos tiempos es uno de los principales problemas de la sociedad a nivel mundial, se dice que un 40% de los pacientes hospitalizados recibe uno o más antibióticos. Su uso, y en ocasiones su abuso, han traído como consecuencia la aparición de gérmenes resistentes con el consiguiente fracaso de los tratamientos (Comegna, Guzmán, Carmona y Molina, 2000).

www.bdigital.ula.ve

Una de las principales fuentes para la búsqueda de sustancias o componentes con propiedades antimicrobianas son las plantas, el uso de las plantas es de gran importancia en la medicina tradicional. Por mucho tiempo se han utilizado con fines curativos, sobre todo en las zonas rurales y pequeñas comunidades, manteniéndose así actualmente. Esto hace que diariamente se indague y se estudie de manera profunda y constante, el conocimiento de las composiciones químicas de las especies vegetales, además de sus propiedades farmacológicas, y así ampliar las diferentes funciones de los productos que de ellas se extraen (Padrón, 2010; Albornoz, 1997).

En base a lo anteriormente expuesto, cabe destacar que en el presente trabajo se realizó el estudio de la planta *Baccharis nitida* perteneciente a la familia Asteraceae. El objetivo de la investigación se puntualizó en la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie, con la finalidad de determinar los componentes de la misma y además indicar si el aceite de *Baccharis nitida* puede servir para contrarrestar infecciones por bacterias o agentes patógenos.

Este tipo de investigaciones en plantas son bastante comunes y sobre el género *Baccharis* hay muchas investigaciones, la mayoría de ellas relacionadas con la obtención de la composición química y actividad antibacteriana (Rangel, García, Velasco, Buitrago, y Velazco, 2001; Marín, López, Pérez., e Isaza., 2006 y Vivot, Sánchez, Cacik, y Sequin, 2009;). Sin embargo, luego de la revisión bibliográfica puede decirse que la especie *Baccharis nitida* ha sido poco estudiada, por ello, se planteó para este trabajo la siguiente interrogante:

¿Cuál es la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie *Baccharis nitida*?

Justificación e Importancia de la Investigación

Históricamente, la inmensa mayoría de las investigaciones fitoquímicas desarrolladas hasta hace unas décadas estaban dirigidas a determinar estructuras novedosas. Hoy día esos estudios se orientan hacia el aislamiento e identificación de compuestos biológicamente activos, especialmente encausados a atacar dolencias que afectan a toda la humanidad (Marcano y Hasegawa, 1991).

Por ello, es importante estar un paso adelante en relación a la búsqueda de nuevos metabolitos que ayuden a combatir enfermedades o infecciones causadas por agentes patógenos, en vista de que existe la tendencia de los microorganismos a desarrollar resistencia a los antibióticos sea por las causas que sean, ya que la principal consecuencia de esto es que en las terapias curativas muchas veces se necesiten gran diversidad y cantidad de antibióticos, provocando que el tratamiento para el afectado sea en algunas ocasiones más largo, más costoso y menos efectivo, de ahí la necesidad de este tipo de investigaciones para contar con mayor cantidad de metabolitos activos que ayuden a contrarrestar el problema (Organización Mundial de la Salud, 2001).

Las plantas son el principal objeto de estudio y de donde mayormente se obtienen metabolitos activos para la elaboración de una gran diversidad de medicamentos con fines específicos, una de las principales industrias en aprovechar y generar productos es la farmacéutica, en consecuencia, el

conocimiento amplio en cuanto a los usos de las misma, es de suma importancia tanto para especialistas como para la población en general (Rosado y Moreno, 2010).

Dentro de los principales estudios en las plantas se encuentran los aceites esenciales, estos son líquidos aromáticos obtenidos de diferentes partes de la planta y utilizados ampliamente en la industria alimentaria, como condimentos y saborizantes; y en las industrias farmacéutica, cosmética y tabacalera, como perfumes y esencias (Quer, 1962).

No obstante, investigaciones muestran que algunos aceites poseen actividades antibacteriana, antifúngica y antiviral (Oliveira, Ehringhausm y Yoskio, 2004; Mesa, Montiel, Martínez, Zapata, Pino y Bueno, 2007 y Delgado y Cuca, 2007;), insecticida, antitóxica (Kahriman, Tosun, Terzioglu, Karaoglu y Yayh, 2011) y antioxidante (Kordali, Kotan, Mavi, Cakir, Ala y Yildirim, 2005) los cuales se presentan como una alternativa viable para conseguir a través de ellos sustancias con actividades biológicas como la actividad antibacteriana, que podría tener múltiples aplicaciones en la creación de fármacos de bajo costo y fácil accesibilidad y en los aceites esenciales se ve un alto potencial para ello (Ochoa y cols., 2012).

La siguiente investigación se realizó con el propósito de conocer la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Baccharis nitida*.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Determinar la composición química y actividad antibacteriana de los aceites esenciales de la especie *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers., proveniente de la zona del páramo, municipio Miranda del estado Mérida.

Objetivos Específicos

- Obtener el aceite esencial de las hojas, flores y tallos de la especie *Baccharis nitida* mediante el método de hidrodestilación.
- Identificar la composición química del aceite esencial de las hojas, flores y tallos *Baccharis nitida* utilizando Cromatografía de Gases Acoplada a Espectrometría de Masas (CG/EM).
- Evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial (hojas y flores) de la especie *Baccharis nitida* empleando la técnica de Kirby Bauer en pozo modificado, frente a cepas de bacterias grampositivas (*Staphylococcus aureus* y *Enterococcus faecalis*) y cepas de bacterias gramnegativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*).

Alcances y Limitaciones de la Investigación

Alcances de la Investigación

Los alcances de la investigación se relacionan con la profundidad del conocimiento que los autores se proponen. En tal sentido, se considera la propuesta de Hernández, Fernández, Baptista, (2010): “si hemos decidido una vez hecha la revisión de la literatura, que nuestra investigación vale la pena y debemos realizarla”, el siguiente paso consiste en visualizar el alcance que tendrá. No se deben considerar los alcances como “tipos” de investigación, ya que, más que ser una clasificación, constituyen un continuo de “casualidad” que puede tener un estudio.

Por lo tanto, durante este estudio se pretendió determinar la composición química del aceite esencial de *Baccharis nitida* desde un nivel de complejidad confirmatorio, en el cual se consideró la posible actividad antibacteriana.

Limitaciones

Las limitaciones de esta investigación estuvieron relacionadas con la disponibilidad de insumos de laboratorio y el tiempo para llevarla a cabo. Específicamente las limitaciones de insumos se presentaron por la carencia de estos en el mercado nacional.

En otro orden de ideas, se contó con poca información sobre aplicaciones y usos que se le dan a algunas partes de la planta, lo cual implicó aunado a lo anterior, la aplicación de mayores procedimientos y aplicaciones experimentales para cumplir con los objetivos planteados.

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

En 2020 Ramos, Justino, Rodríguez, Feitosa, Esmeraldo, J., De Araújo, J., Costa, M., Silva, R., Da Silva, L., D Amaral, W., Deschamps, C., Tintino, S., Ribeiro, J. y Melo, H. llevaron a cabo una investigación titulada: “Caracterización y actividad antibacteriana del aceite obtenido de las hojas de *Baccharis caridifolia* DC frente a cepas multiresistentes”, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar la actividad antibacteriana y moduladora de antibióticos del aceite esencial *Baccharis coridifolia* contra cepas resistentes a múltiples fármacos (MDR). El análisis fitoquímico se realizó mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (CG/EM), y se realizó la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la modulación antibiótica a partir del método de microdilución en placas de 96 pocillos. Se reveló la presencia de germacreno D (23,7%), biciclogermacreno (17,1%) y (E)-cariofileno (8,4%) como componentes principales. La concentración inhibitoria mínima del aceite esencial contra cepas

de *Pseudomonas aeruginosa* (512 µg/mL) y *Staphylococcus aureus* (128 µg/mL) demostraron actividad antibacteriana clínicamente relevante. Indicaron que además, la combinación de dosis subinhibidoras del aceite con antibióticos convencionales mostró sinergismo, lo que indica una potenciación del efecto antibacteriano. Llegaron a la conclusión de que el aceite esencial de *Baccharis coridifolia* (EOBc) presentó actividades antibacterianas y moduladoras de antibióticos que sitúan a esta especie como fuente de moléculas útiles en la lucha contra la resistencia bacteriana.

En 2019, Ortuño llevo a cabo una investigación para determinar la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de la especie *Baccharis latifolia* y *Coriandrum sativum*, sobre la especie *Xanthomona* sp., los halos de inhibición que se obtuvieron en las pruebas fueron mayores cuando la concentración fue de 100%; en el caso de *Baccharis latifolia* se obtuvieron halos de inhibición de 12 mm en promedio cuando la concentración fue de 100%, de 10 mm cuando la concentración fue de 50% y 8 mm para una concentración de 25%; para la especie *Coriandrum sativum*, de 19 mm en promedio cuando la concentración fue de 100%, de 16 mm cuando la concentración fue de 50% y 10 mm para una concentración de 25%. Por otro lado, identificaron a través de cromatografía de gases los componentes con mayor porcentaje para cada especie obteniéndose para *B. latifolia* los siguientes componentes; α -felandreno (18,12%), limoneno (17,15%), norhalkendin (10,0%) y andro enecalinalol (6,00%). Para *Coriandrum sativum*,

se obtuvo benzaldehído (40,25%), geraniol (19,00%), alcanfor (26,00%) y decanol 10,00%. Esta investigación representó principalmente una fuente de información en cuanto a los componentes mayoritarios encontrados en la especie *Baccharis latifolia*, permitiendo comparar si los componentes mayoritarios encontrados se relacionan con los componentes encontrados en la especie estudiada (*Baccharis nitida*)

En 2018 Torres y cols., llevaron a cabo la investigación titulada “Caracterización fitoquímica del aceite esencial de *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae) y evaluación de la actividad antibacteriana”. El objetivo fue evaluar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Baccharis dracunculifolia* (DC) (EOBD) y moduladora de antibióticos. El análisis de la composición química del aceite esencial fue por cromatografía de gases-espectrometría de masas (CG-EM) y reveló como principales componentes: Germacreno D (18,4%), (E)-Nerolidol (14,0%), Mustacona (11,2%), Espatulenol (11%), β -pineno (9,5%) y Biciclogermacreno (8,4%). Se realizó la evaluación directa de la actividad antibacteriana *in vitro*, así como en combinación con los antibióticos Ampicilina, Gentamicina y Norfloxacin contra las cepas estándar de *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*. Se observó actividad antibacteriana directa del aceite esencial de *B. dracunculifolia* contra *S. aureus* con una CIM de 102 $\mu\text{g/mL}$ y una de 512 $\mu\text{g/mL}$. El EOBD moduló sinérgicamente el antibiótico Norfloxacin contra *P. aeruginosa*, con una reducción de la CIM de 50,8 a

6,35 µg/mL, una reducción de la CIM de gentamicina de 20,16 a 4 µg/mL y una reducción de la CIM de ampicilina de 645,1 a 512 µg/mL. El aceite esencial modificó sinérgicamente la actividad de Norfloxacin contra *E. coli* con una reducción de la CIM de 40,32 a 3,17 µg/mL y una reducción de la CIM de gentamicina de 50,8 a 25,4 µg/mL. El aceite esencial también mostró sinergismo contra *S. aureus* cuando se asoció con Norfloxacin, con una reducción de la CIM de 322,54 a 203,2 µg/mL, mientras que cuando se asoció con Ampicilina, demostró sinergismo al reducir la CIM de 80,6 a 20,16 µg/ml. Los resultados de esta investigación revelaron que el EOBD es un producto natural prometedor con potencial antimicrobiano, tanto directamente como en combinación con antibióticos, para uso clínico contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.

Chaverri y Ceccio en 2017, determinaron los constituyentes de los aceites esenciales de *Baccharis trinervis* (Asteraceae) de Costa Rica. El objetivo de este estudio fue identificar los constituyentes químicos de los aceites esenciales obtenidos de diferentes partes morfológicas de *Baccharis trinervis* en tres localidades de Costa Rica, obtenidos mediante el método de hidrodestilación. Se analizó la composición química de los aceites por cromatografía capilar de gases con detector de ionización de flama (CG-FID) y cromatografía de gases acoplada a un detector de masas (CG-EM), utilizando los índices de retención en una columna tipo DB-5 y los patrones de fragmentación, lo cual permitió la identificación de 268 constituyentes. Los

aceites esenciales de diferentes partes de *Baccharis trinervis* de Costa Rica presentaron un perfil químico muy complejo, predominantemente de naturaleza terpenoide con algunos compuestos alifáticos y aromáticos como componentes minoritarios.

En 2016 Suzuki, Caneschi, Costa, Fernández y Barbosa estudiaron la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Baccharis trimera* (carqueja-amarga) que se cita como uno de los diez aceites más consumidos por la industria cosmética en Brasil. El objetivo consistió en investigar la actividad antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *B. trimera* contra *Staphylococcus epidermidis*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus luteus* y *Corynebacterium xerosis*, las cuales son las principales bacterias responsables del mal olor de la transpiración. Los métodos que se realizaron fueron el análisis de cromatografía de gases (CG) y la actividad antimicrobiana se evaluó mediante el método turbidimétrico, utilizando un ensayo de microdilución. En los resultados se identificaron 20 componentes, siendo el β -pineno (23,4%) el compuesto principal encontrado. Los valores de concentración inhibitoria mínima (CIM) del aceite esencial varió de 500 $\mu\text{g/mL}$ a 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Se observó un efecto perjudicial del aceite esencial sobre la morfología de las membranas celulares de las bacterias estudiadas por microscopía electrónica de barrido (SEM). Los autores concluyeron que los resultados demuestran que el aceite esencial de *B. trimera* es un potencial en la aplicación de los agentes antimicrobianos en productos de

higiene personal. El estudio anterior es una muestra del efecto del aceite de *B. trimera*, al someterlo a pruebas de laboratorio que evidencian características antimicrobianas de este género.

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

El nombre genérico *Baccharis* fue propuesto por Linné en su obra *Hortus Cliffortianus* en 1737, para agrupar cuatro especies (las que luego serían denominadas *B. halimifolia*, *B. indica*, *B. neriifolia* y *B. tenuifolia*); posteriormente, en su obra *Species Plantarum* del año 1753 agregó dos más *B. foetida* y *B. ivifolia*. No obstante, la concepción del género que tenía Linné difiere de la actual, puesto que él mismo, en *Genera Plantarum* del año 1754 lo definió como monoico. De este modo, de las especies originalmente descritas por él, sólo una (*B. halimifolia*) permanece actualmente en este género (Giuliano, 2003).

Ruiz y Pavón en 1794 propusieron el género *Molina* sobre la base de la condición dioica de las 24 especies que luego (en 1798) ubicaron en él, constituyendo así la base del concepto moderno del género. Sin embargo, el nombre *Molina* Ruiz & Pav. es ilegítimo, ya que es un homónimo posterior de *Molina* Cav. 1790, un género de la familia Malpighiaceae. De cualquier modo, Persoon (1807) transfirió todas las especies descritas por Ruiz y Pavón bajo *Molina* a *Baccharis*, otorgándole entonces a este último el carácter dioico que hoy unifica a la enorme mayoría de las especies (Giuliano, 2003).

Desde entonces, los investigadores autores de los más importantes trabajos sistemáticos han utilizado el nombre *Baccharis* siguiendo este criterio diferente al originalmente empleado por Linné. El único autor clásico que mantuvo a *Molina* y *Baccharis* como géneros separados fue Lessing (1831); según su criterio, ambos géneros incluían sólo plantas dioicas, pero se distinguían según el número de series de cerdas del pappus de las flores carpeladas (una y dos, respectivamente) (Giuliano, 2003).

Durante largo tiempo, ningún autor cuestionó la identidad de *Baccharis* como género natural o monofilético. En todo caso, aquellas especies que en el momento de su descripción se consideraban afines pero distinguibles por algún carácter importante, fueron ubicadas en géneros particulares usualmente monoespecíficos; tal es la situación de *Sergilus* Gaert., *Tursenia* Cass., *Pingraea* Cass., *Stephananthus* Lehm., *Arrhenachne* Cass., *Polypappus* Less., *Ipma* Phil., *Psila* Phil. y *Baccharidastrum* Cabrera. Sin embargo, todos estos géneros fueron sucesivamente incluidos en la sinonimia de *Baccharis* por diversos autores (Giuliano, 2003).

Una segregación relativamente importante de especies, aunque siempre sin cuestionar la homogeneidad de *Baccharis* como género rico en especies, tuvo lugar cuando Cabrera en 1944 propuso el género *Pseudobaccharis* para agrupar a las especies que poseen los receptáculos de los capítulos carpelados cubiertos de páleas. Posteriormente, Cabrera en 1955 transfirió las especies de *Pseudobaccharis* a *Psila*, por juzgar que no

existían diferencias que justificaran la separación de ambos géneros. El criterio de considerar a las especies provistas de receptáculos paleáceos bajo cualquiera de estos dos géneros fue seguido por varios autores (Badillo, 1946, 1963; Teodoro Luis, 1949, 1952, 1957; Aristeguieta, 1964) hasta que Cuatrecasas (1967) los remitió a la sinonimia dentro de *Baccharis*, debido a que dicho carácter no está acompañado por uniformidad de caracteres vegetativos ni de distribución geográfica (Giuliano, 2003).

El primer autor que cuestionó seriamente el carácter de la dioecia como justificación del monofiletismo de *Baccharis* fue Hellwig en 1990, quien luego propuso la segregación del mismo en 5 géneros distintos: *Baccharis* Str., *Neomolina* F.H. Hellwig, *Pingraea* Cass. Emend. F.H. Hellwig, *Stephananthus* Lehm. y *Pseudobaccharis* Cabrera. No obstante, esto no fue aceptado por algunos especialistas entre ellos Nesom en 1994, 2000 y Robinson en 1997, quienes sostienen que Hellwig no aportó argumentos suficientes como para considerar a esos grupos al nivel de géneros independientes, y que bien podrían ser tratados como categorías infragenéricas (Giuliano, 2003).

Como se evidencia son muchos los estudios que se han realizado sobre este género, en relación a la fitoquímica y actividad biológica puede mencionarse que comenzaron desde principios de 1900 hasta hoy en día, en donde ya hay más de 150 compuestos aislados e identificados de este género. Entre los compuestos reportados se encuentran principalmente

flavonoides, diterpenos y triterpenos (Gonzaga, Costa, Pizzolatti, 2005). También se han obtenido cumarinas y aceites esenciales (Gonzaga y cols., 2005; Abad y Bermejo, 2007).

Bases Teóricas

Descripción y distribución geográfica de la familia Asteraceae.

Las Asteraceae (Compositae), ubicada dentro del orden Asterales, consta de una familia muy nutrida, reuniendo alrededor de 13 tribus, más de 1.400 géneros y de 20.000 a 23.000 especies. El nombre común de esta familia es Compuesta y hace referencia a la disposición de las flores en capítulos compactos, cada uno de los cuales parecen a su vez una única flor; se adaptan especialmente a la zonas semiáridas de las regiones tropicales y subtropicales, así como al territorio ártico, es decir tiene una distribución cosmopolita, ver figura 1 (Tapia, 2010).



Figura 1. Distribución geográfica de la familia Asteraceae, Tomada de Prada, 2015.

Esta familia agrupa cerca del 10% de todas las plantas con flores, su importancia económica directa es bastante amplia (Del

Vito y Petenatti, 2009; Stevens, Ulloa, Pool y Montiel, 2001). Son pocas veces arbustos pequeños o de talla mediana glabras o con pelos de tipos glandulares o eglandulares; su tallo a menudo muestra un crecimiento secundario bien desarrollado con haces vasculares inicialmente separados, en algunos casos presentan un crecimiento secundario anómalo y a veces con haces medulares o corticales (Stevens y cols., 2001).

En Venezuela se encuentra distribuida desde el nivel del mar hasta los sitios más elevados de los páramos andinos, donde escasamente es posible el desarrollo de plantas superiores. Al considerar la distribución de las Compuestas en Venezuela, el país puede ser dividido en tres regiones: a) Costa y Llano b); Andes y Cordillera costera; c) región Guayanesa. De estas tres regiones, la primera es pobre en endemismo y números de especies de Compuestas. Las dos últimas, en cambio, representan las áreas de mayor concentración de Compuestas con un alto grado de endemismo (Badillo, 2001).

La familia de las Asteraceae (Compositae), está compuesta por 13 tribus en Venezuela (Tabla 1). Dentro de las cuales encontramos la tribu Astereae, donde se ubica el género *Baccharis* (Badillo, 1996). Esta tribu se encuentra distribuida en todo el mundo, en el país se conocen acerca de 14 géneros y más de 60 especies de esta tribu (Badillo, 1996).

Tabla 1.
Tribus de la Familia Asteraceae

I.	Barnadesieae
II.	Multisieae
III.	Cardueae
IV.	Lactuceae
V.	Vernonieae
VI.	Liabeae
VII.	Plucheae
VIII.	Gnaphalieae
IX.	Astereae
X.	Anthemideae
XI.	Senectoneae
XII.	Heliantheae
XIII.	Eupatorieae

Tomado de: (Badillo, 2001)

Descripción y distribución geográfica del Género *Baccharis*.

Para entender el género *Baccharis* es necesario conocer la taxonomía de la misma (ver tabla 2), esto nos permite comprender los elementos comunes que pertenecen al género. El cual lo representan desde arbustos hasta arboles pequeños, dioicos. Hojas simples, alternas, enteras o dentadas. Indumento de pelos simples. Cabezuelas homogéneas discoideas. Involucro multiseriado. Receptáculo desnudo o peleaceo. Corolas tubulosas, regulares. Flores femeninas sin estambres. Flores masculinas con pistilodio (Badillo, 1996).

Tabla 2.
Taxonomía del género *Baccharis*.

Reino	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Asterales
Familia	Asteraceae
Género	<i>Baccharis</i>

Tomado de: (Badillo, 2001)

El género *Baccharis* es uno de los más grandes géneros de la tribu Asteraceae (Verdi, Brighente y Pizzolatti, 2005), comprende una de las 400 especies americanas de arbustos o subarbustos, este género es uno de los más importantes de la tribu Astereae (familia Asteraceae). Presenta una amplia distribución en el continente americano, desde las islas de Nueva Escocia (Canadá) por el este y sur de los Estados Unidos hasta la Patagonia y Tierra del Fuego, faltando en la región de la selva amazónica. En esta vasta distribución geográfica, las especies del género *Baccharis* ocupan una gran diversidad de ambientes: selvas subtropicales, selvas nubladas, bosques caducifolios, bosques xerófilos, sabanas, praderas, matorrales, páramos, desiertos; se hallan en alturas que van desde el nivel del mar hasta los 4000 m (Giuliano, 2003).

En Venezuela el género *Baccharis* es bastante importante y sus especies están distribuidas en todo el país, siendo más abundantes en la

región andina y cordillera costera del país, así como también en la región guayanesa. En la región andina de Venezuela, Colombia, Ecuador y Norte de Perú se han identificado géneros como; *B. buddleioides*, *B. buxifolia*, *B. chilco*, *B. decussata*, *B. genistelloides*, *B. grandiflora*, *B. jelskii*, *B. macrantha*, *B. prunifolia*, *B. pululahuensis*, *B. rupicola*, *B. teindalensis*, *B. tricuneata* y *B. nitida*, específicamente por el Norte de Sudamérica desde Colombia y Venezuela hasta Bolivia y Brasil, entre otros (Giuliano, 2003).

Composición química del género *Baccharis*.

En relación al género *Baccharis* son múltiples los metabolitos que se han identificado.

Componentes volátiles del género *Baccharis*.

Se han identificado los siguientes componentes volátiles en algunas especies de *Baccharis* (Tabla 3).

Usos del género *Baccharis*

Tradicionalmente las especies de este género han sido utilizadas para el tratamiento de diversas patologías entre las cuales se encuentran contusiones e inflamaciones, también son usadas como antibacteriano y desinfectante (Martínez, 2001). El uso variado de las mismas se debe a la composición química que presentan, la cual se basa principalmente en flavonoides, diterpenos, triterpenos, cumarinas y aceites esenciales (Verdi y cols., 2005; Abad y Bermejo, 2007; Freire, Urtubey y Giuliano, 2007).

Tabla 3.
Componentes volátiles identificados en el género *Baccharis*.

Componente volátil	Especie	Referencias
α -tuyeno, α -pineno, β -pineno, sabineno, mirceno, limoneno, α -terpineno, γ -terpineno, terpin-4-ol	<i>Baccharis obovata</i> Hook Aceite de las partes aéreas de la planta	(Malizia y cols., 2005)
óxido de cariofileno, viridiflorol, germacreno D, germacreno B, β -cariofileno, espatulenol, δ -3-careno, α -pineno, biciclogermacreno, δ -cadineno, β -elemeno, limoneno	<i>Baccharis trinervis</i> (aceite de las hojas)	(Chaverri y Ceccio, 2017).
β -pineno Globulol, β -cariofileno, 4-cis-muurolo, germacreno D, biciclogermacreno, espatulenol, óxido de cariofileno, viridiflorol, β -elemeno, germacreno B, γ -cadineno, δ -3-careno, α -humuleno, germacreno B, germacreno D, β -cariofileno, viridiflorol, globulol, δ -3-careno, β -felandreno, biciclogermacreno δ -cadineno, β -copaeno, β -elemeno, γ -muurolo	<i>Baccharis trinervis</i> (aceite de las hojas) <i>Baccharis trinervis</i> (aceite de las flores) <i>Baccharis trinervis</i> (aceite de los tallos)	(Chaverri y Ceccio, 2017).
α -bisabolol limoneno	<i>Baccharis articulata</i> Partes aéreas	(Gianello y Giordano, 1984)

Tabla 3 (cont).

Componente volátil	Especie	Referencias
Monoterpenos, sesquiterpenos (no especificados) y Nerolidol	<i>Baccharis dracunculifolia</i> Hojas de la planta	(Canani, Lemos, Barreto, Comunello, Maistro, De Andrade, 2014)
β -pineno, α -pineno, limoneno, β -cariofileno, espatulenol, biciclogermacreno, viridiflorol	<i>Baccharis tandilensis</i> Partes aéreas florecidas de ejemplares femeninos y masculinos.	(Prado, Baren, Lira, Bandoni y Orfila, 2003).
α -pineno, β -pineno, limoneno, espatulenol, globulol, (E) erolidol, biciclogermacreno, terpinen-4-ol	<i>Baccharis uncinella</i> Partes aéreas.	(Frizzo Serafini, Dellacass, Lorenzo y Moyna, 2001).
α -pineno, β -pineno, limoneno y espatulenol	<i>Baccharis uncinella</i> Flores	(Mintegiaga, 2013)
α -pineno, limoneno, β -cariofileno, espatulenol	<i>Baccharis notoserghila</i> Partes aéreas	(Cobos, Justo, Rodríguez, Demo, Faillaci y Zygadlo, 2001)
trans-nerolidol	<i>Baccharis crispa</i> Plantas femeninas y masculinas	(Zunino, Novillo, Mestri y Zygadlo, 1998).
α -cadinol, germacreno-D.	<i>Baccharis salicifolia</i> Plantas femeninas y masculinas	(Zunino, Novillo, Mestri y Zygadlo, 1998).
β - felandreno, sabineno, β - pineno, α - pineno	<i>Baccharis latifolia</i> Partes aéreas	(Valarezo, Rosillo, Cartuche, Malagon, Meneses y Morocho, 2013)

Tabla 3 (cont).

Componente volátil	Especie	Referencias
α -pineno β -pineno 1,2,3-trimetilbenzeno 2,4- trimetilbenzeno 1,3,5- trimetilbenzeno Cumeno Fenilmetanol 2- fenil-propano Etil-ciclohexano	<i>Baccharis salicifolia</i> Hojas de la especie	(Valarezo, Rosillo, Cartuche, Malagon, Meneses y Morocho, 2013)
Trimetilindano 1,1,4- trimetilindano 1,1,5- trimetilindano 1,1,6- trimetilindano Ciclohexilbenceno Estireno	<i>Baccharis salicifolia</i> Hojas de la especie.	(Silva y Romero, 2019)
α y β -pineno limoneno	<i>Baccharis tridentata</i> Flores	(Mintegiaga, 2013)
Espatulenol germacreno D	<i>Baccharis milleflora</i> Hojas	(Mintegiaga, 2013)
Palustrol Espatulenol óxido de cariofileno	<i>Baccharis trimera</i> Flores	(Mintegiaga, 2013)

En algunos países, por ejemplo, ciertas especies de *Baccharis* (*B. trimera*, *B. articulata*, y *B. crispa*) son usadas en medicina popular, en forma de infusiones para el tratamiento de reumatismo, desordenes hepatobiliares, diabetes y externamente para los casos de ulceración de la piel y heridas (Gené, Cartaña, Adzet, Marin, Parella y Cañigueral, 1996), en la tabla 4 se presentan algunas especies y usos.

Tabla 4.
Usos de algunas especies del género *Baccharis*.

Especie	Ubicación	Forma de aplicación	Uso tradicional	Parte usada
<i>Baccharis illinita</i>	Brasil	Té	Propiedades antiinflamatorias de piel, mucosa, anti infecciosos, ulcera de estómago	Hojas y tallos
		Polvo	Cicatrización de heridas de piel	Hojas maceradas y secas
<i>Baccharis incarum</i> Wedd	Argentina	Cataplasmas	Heridas	Hojas
		Infusiones		Hojas y/o Tallos
<i>Baccharis heterophylla</i>	México	Infusiones o decocciones	Trastornos gastrointestinales	Partes aéreas
<i>Baccharis latifolia</i> Pers	América del Sur	Decocciones	Reumatismo, hígado, heridas y úlceras	Hojas y tallos
<i>Baccharis multiflora doblado</i>	México	Infusiones	Gripe, inflamación problemas urinarios	Hojas
<i>Baccharis obtusifolia</i>	Colombia	Decocción	Reumatismo, enfermedades del Hígado, heridas y úlceras	Partes aéreas
<i>Baccharis pentlandii</i>	Bolivia		Inflamación y reumatismo	
<i>Baccharis rubricaulis</i>	Bolivia (utilizado por indígenas)	Infusiones o decocciones	Dolencia de mucosas	Hojas y tallos
<i>Baccharis salicifolia</i>	Desde Los Estados Unidos hasta Chile y Argentina	Infusión	Inflamación	Hojas
		Decocción	Agente de higiene femenina	Hojas y tallos

Tabla 4 (cont).

Especie	Ubicación	Forma de aplicación	Uso tradicional	Parte usada
<i>Baccharis teindalensis</i>	Ecuador	Infusiones o decocciones	Antiinflamatoria, analgésico y remedio antimicrobianos	Partes aéreas
<i>Baccharis tricuneata</i>	Venezuela	Decocciones o infusiones	Infecciones de piel y diabetes	Hojas y tallos
<i>Baccharis vaccinoides</i>	México	Infusiones o decocciones	Trastornos gastrointestinales	Toda la planta
<i>Baccharis articulata</i>	Sur de Brasil, Uruguay, Paraguay Argentina.	Decocción e infusiones	Diabetes	Partes aéreas
<i>Baccharis alamani</i>	México		Inflamaciones	Planta entera
<i>Baccharis conferta</i>	México	Bebida Laxante Té de hojas	Dolor de estómago Estimular micción Pérdida de peso	Hojas
<i>Baccharis coridifolia</i>	Sur de Brasil, Paraguay, Uruguay, Argentina.	Decocción Vapores mezclados con azufre	Antiinflamatorio Moquillo de caballo y paracitos externos de los caballos	Hierba entera
<i>Baccharis serraefolia</i>	México	Infusión	Diarrea y enfermedades gastrointestinales	Hojas
<i>Baccharis crispa</i>	Brasil, Paraguay, Uruguay y Argentina	Decocciones Infusión Extracto	Antiséptico de uso externo y digestivos Afecciones al hígado y desordenes digestivos	Partes aéreas Hojas

Tabla 4 (cont).

<i>Baccharis dracunculifolia</i>	Brasil	Infusión	Problemas hepáticos, disfunciones estomacales y antiinflamatorio	Hojas
	Argentina	Decocción	Cólicos y anemia por pérdida de sangre	
<i>Baccharis douglassi</i>	Oeste de américa		Desinfectante Riñón y piel	-----
<i>Baccharis floribunda</i>	Perú, Venezuela	Decocciones o infusiones	Cortes y heridas, diabetes y reumatismo	Hojas y tallos
<i>Baccharis gaudichaudiana</i>	Brasil		Astringente y antipirético	
<i>Baccharis glutinosa</i>	México	Infusión	Trastornos ginecológicos y digestivos y enfermedades de la piel	Hoja
<i>Baccharis genistelloides</i>	Perú, Amazonas	Tónico	Enfermedades del hígado, reumatismo, diabetes	
<i>Baccharis sarothroides</i>	México	Decocción	Resfriados, dolores de cabeza sinusal y dolencias generales	Ramas
<i>Baccharis uncinella</i>	Brasil		Sedante	Hojas

(Tomado de Prada, 2015).

Distribución geográfica de la especie *Baccharis nitida*

Esta especie se distribuye en tres núcleos: la región andina desde Venezuela hasta Bolivia, el Macizo Guayanéz, y el Macizo Brasileño hasta el estado de Santa Catarina y la provincia argentina de Misiones (Giuliano, 2003), la especie fue originalmente descrita en Perú, pero también se encuentra ampliamente distribuida en Colombia, Ecuador, Bolivia y Venezuela (Badillo, 1996).

Descripción botánica de la especie *Baccharis nitida*

La especie *Baccharis nitida* (Ruiz et Pavon) Pers, conocida comúnmente como caciquito, es un arbusto erecto, leñoso y ramificado, con ramas subredondas glabro-viscosas con hojas alternas y cabezuelas femeninas con 30 a 40 flores acampanadas de color crema o con tinte rojizo (Aristigueta, 1964).

La planta *Baccharis nitida* mide de 1 a 3 m de altura, ramificada, es polimorfa en cuanto al tamaño y forma de la hoja, así como en el desarrollo y densidad de las inflorescencias y cantidad de flores (Aristigueta, 1964). Posee Hojas alternas, simples, elípticas, de 5 a 15 cm de longitud por 1,5 a 6 cm de ancho, margen entera, ápice agudo, base cuneada, glandulares; peciolo de 1 a 2 cm de longitud (Giuliano, 2003).

Las flores son numerosas, agrupadas en cabezuelas de 0,5 a 1,5 cm de longitud, distribuidas sobre racimos o panículas, de 4 a 10 cm de longitud;

cada cabezuela rodeada por numerosas brácteas membranáceas, de color verde, las externas más cortas que las internas; pedúnculos cortos de 0,1 a 0,4 cm de longitud; flores sésiles, pequeñas, de 0,5 a 0,6 cm de longitud, de color blanco amarillento (Aristigueta, 1964; Giuliano, 2003).

Las plantas femeninas con flores de corola filamentosa (ver figura 2); sin estambres; estilo exserto, bífido, de color amarillo café, mientras las plantas masculinas con flores de corola tubular, cinco dentada; cinco estambres, anteras unidas por sus bordes formando un tubo de color blanco crema; estilo engrosado



Figura 2. Especie *Baccharis nitida*.

bífido, fruto en aquenio, pequeño, ovoide, delgado, de color amarillo claro o café claro, con un pappus terminal formado por numerosos filamentos, más largos en las flores femeninas de color blanco o blanco amarillento (Aristigueta, 1964; Giuliano, 2003).

Usos de la especie *Baccharis nitida*

La especie *Baccharis nitida* ha sido utilizada particularmente para tos, bronquitis y afecciones pulmonares en países como Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Venezuela (Girault, 1987)

Aceites Esenciales

Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, extraídas de plantas olorosas, estos compuestos son utilizados por las plantas para su desarrollo, reproducción o protección, al ser sustancias volátiles, arrastrables por vapor y a ello se debe su aroma. Están presentes en glándulas de aceites, pelos glandulares o disueltos en las resinas. Son insolubles en agua y solubles en solventes orgánicos, generalmente son líquidos, pero en algunos casos se solidifica una parte por enfriamiento (Marcano y Hasegawa, 1991).

Composición química de los aceites esenciales.

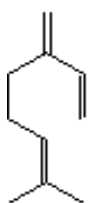
Los aceites esenciales son mezclas complejas y muy variables de constituyentes que pertenecen, de manera casi exclusiva a tres grupos caracterizados por orígenes biogénicos distintos: el grupo de los terpenoides, el grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano y el grupo de los compuestos de origen diverso (Bruneton, 2001).

Terpenoides. En los aceites esenciales se encontrarán únicamente los terpenos más volátiles, es decir, aquellos cuya masa molecular no es demasiado elevada: monoterpenos y sesquiterpenos (Bruneton, 2001).

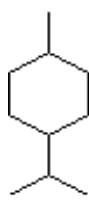
Monoterpenos. Son biogénicamente derivados de dos unidades de isopreno (C₁₀); como por ejemplo Mirceno (1), *p*-metano; Carano (3) y

Tujano (4) (Figura 3) y están distribuidos en una gran variedad de sistemas vivos, plantas, microorganismos, insectos, algunos tienen función específica en el individuo productor y varios presentan actividades biológicas de distintas naturalezas (Marcano y Hasegawa, 1991). A veces constituyen más del 90 % del aceite esencial. La reactividad de los cationes intermediarios justifica la existencia de numerosas moléculas funcionalizadas según (Bruneton, 2001):

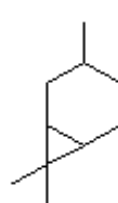
- ♣ Alcoholes
- ♣ Aldehídos
- ♣ Cetonas
- ♣ Ésteres
- ♣ Éteres
- ♣ Peróxidos
- ♣ Fenoles



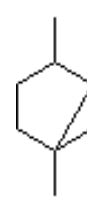
Mirceno (1)



p-metano (2)



Carano (3)



Tujano (4)

Figura 3. Ejemplos de estructuras de monoterpenos (Bruneton, 2001).

Sesquiterpenos. Contiene quince átomos de carbono, presenta una gran diversidad estructural como resultado de la gran facilidad de re

arreglarse, por ello se considerarán los más representativos y de manera esquemática para simplificar la visión global y las interrelaciones de sus esqueletos; ejemplo Cadineno (5) y Guaiol (6) (figura 4) (Marcano y Hasegawa, 1991). Las variaciones estructurales más frecuentes según (Bruneton, 2001):

- ♣ Hidrocarburos
- ♣ Alcoholes
- ♣ Cetonas
- ♣ Ésteres

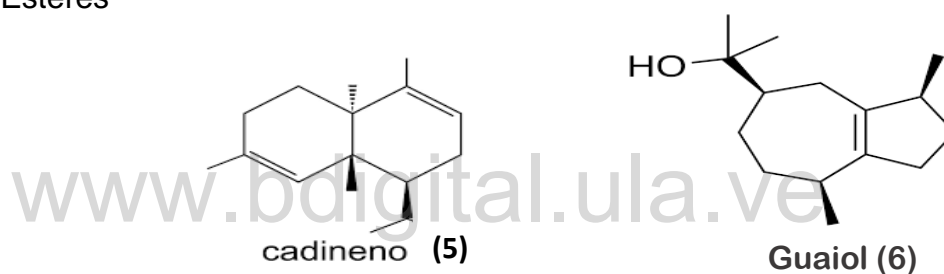


Figura 4. Ejemplos de estructuras de sesquiterpenos (Marcano y Hasegawa, 1991).

Compuestos Aromáticos

Los derivados del fenilpropano son mucho menos frecuentes, se tratan generalmente de alil y propenil fenoles, a veces aldehídos característicos de determinados aceites esenciales (Bruneton, 2001).

Compuestos de orígenes diversos

Resultan de la transformación de moléculas no volátiles. Estos compuestos suelen contribuir a los aromas de los frutos (Bruneton, 2001).

Propiedades físicas de los aceites esenciales

Los aceites esenciales son líquidos a temperatura ambiente, volátiles, muy raramente coloreados. En general su densidad es inferior a la del agua. Poseen un índice de refracción elevado y la mayoría desvían la luz polarizada. Son liposolubles y solubles en solventes orgánicos habituales. Arrastrables en vapor de agua, son muy poco solubles en ella, son lo suficientemente solubles como para desprender un olor neto (Bruneton, 2001)

Localización de los Aceites Esenciales.

Los aceites esenciales se encuentran mayormente en los vegetales superiores, los cuales elaboran los componentes y se repiten en un número determinado de familias, como las Lauraceae, Lamiaceae, Rutaceae, Asteraceae, entre otras. Los aceites esenciales se almacenan en todos los órganos de la misma especie, sin embargo, pueden variar según su localización. Se han extraído aceites esenciales de las flores (como en el caso de las bergamota y nardo), hoja (laurel, eucalipto), corteza (canela), leños (sándalo), raíces (vetiver), rizomas (jengibre), frutos (anís estrellado),

semillas (nuez moscada). En el caso de las Asteraceae también se localizan en canales secretores (Gil, Mejías, Carmona, Mejías y Rodríguez, 1996 y Bruneton, 2001).

Existen diversos métodos para la extracción de los aceites esenciales, cada uno de ellos se explican a continuación:

Métodos para la extracción de aceites esenciales

Expresión. Método adecuado cuando los aceites volátiles no pueden ser destilados sin que sufran descomposición. Generalmente se hacen rodar los frutos sobre una bandeja revestida de púas o se exprime el pericarpio y las hojas a mano, o con prensas mecánicas o eléctricas (Albornoz, 1980).

Destilación. Dentro de este método se pueden mencionar los siguientes:

- **Destilación con agua:** Se utiliza cuando el material está seco y no se altera por ebullición (Albornoz, 1980).
- **Destilación con agua y vapor:** Es aplicable cuando las plantas crudas, frescas o secas pueden alterarse por ebullición (Albornoz, 1980).
- **Destilación por arrastre con vapor:** Es adecuada cuando se trata de material fresco, se puede trabajar con abundante materia prima. Este método opera con bajos costos y casi siempre se le utiliza en la producción de esencias (Albornoz, 1980).
- **Hidrodestilación:** Este método consiste en sumergir directamente el material vegetal a tratar (intacto u ocasionalmente triturado) en un

alambique lleno de agua que a continuación se somete a ebullición. Los vapores heterogéneos se condensan sobre una superficie fría y el aceite esencial se separa por diferencia de densidad (Bruneton, 2001).

Enfleurage: Se usa cuando el contenido volátil en los órganos vegetales es precario, se recurre a un método costoso pero más adecuado. Una delgada capa inodora se extiende sobre una lámina de vidrio y los pétalos frescos se colocan entre ella por unas horas; posteriormente se colocan otras capas de pétalos. Una vez que la grasa halla absorbido toda la fragancia posible, el aceite se extrae mediante solventes orgánicos, generalmente etanol (Albornoz, 1980).

Extracción con disolventes: En la industria cosmética se utiliza la extracción con solventes no polares, los aceites extraídos de esta manera, ofrecen mayor fragancia. Este método ofrece la ventaja, comparada con la destilación, de que la temperatura puede mantenerse uniforme (generalmente 50 °C) durante casi todo el proceso (Albornoz, 1980).

Extracción con gases supercríticos: Más allá del punto crítico, un fluido puede tener la densidad de un líquido y la viscosidad de un gas, por tanto, una buena capacidad de difusión en los sólidos y un buen poder disolvente. Se pueden utilizar varios gases, el más interesante es el dióxido de carbono debido a sus ventajas: producto natural, químicamente inerte, ininflamable, estrictamente atóxico, fácil de eliminar totalmente, fácilmente disponible, selectivo, poco reactivo químicamente y poco costoso.

Los inconvenientes tecnológicos no son despreciables, pero las ventajas son numerosas: capacidad de proporcionar extractos de composición muy próxima a la de los productos naturales, posibilidad de hacer variar la selectividad, la viscosidad, variando la temperatura y la presión, ausencia de hidrólisis y de reagrupamientos. El método se puede emplear en la actualidad para preparar extractos de especies, aromas y esencias vegetales puras, desprovistas de interés olfativo y oxidable o privadas de ciertos constituyentes. La extensión del empleo de los fluidos supercríticos a la extracción líquido-líquido y a la cromatografía aumenta las posibilidades de estos procedimientos (Bruneton, 2001).

Métodos para determinar los componentes químicos de los aceites esenciales

Debido al gran interés comercial los métodos de análisis han avanzado rápidamente. El más usado hoy en día, gracias a la volatilidad, es la cromatografía de gases acoplada a la espectroscopia de masas (CG-EM); la identificación de los aceites esenciales está basada en los datos obtenidos mediante ionización por impacto de electrones de alta energía (Marcano y Hasegawa, 1991).

Cromatografía de Gases: La cromatografía es un método físico de separación en el que los componentes a desglosar se distribuyen entre dos fases: la fase móvil y la fase estacionaria. En la cromatografía de gases la

fase móvil está integrada por la mezcla a resolver y en la mayoría de los casos, por un gas no retenible o inerte, que sirve para llevar en sí o para empujar la mezcla y los componentes después de su separación. La fase estacionaria puede ser un sólido (columna). Los compuestos separados emergen a intervalos discretos (característicos de cada componente) y pasan a través de algún tipo de detector (Storch, 1968).

Asimismo, la cromatografía de gases es una técnica separativa que tiene la cualidad de conseguir la separación de mezclas muy complejas. Pero una vez separados, detectados, e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra problema, el único dato de que disponemos para la identificación de cada uno de ellos es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos (Storch, 1968).

Este dato no es suficiente para una identificación inequívoca, sobre todo cuando analizamos muestras con un número elevado de componentes, como es frecuente en cromatografía de gases capilar, de allí que también se requiera de la Espectrometría de Masas (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Espectrometría de Masas: Esta es una técnica en la que los iones obtenidos de una sustancia, en general orgánica, se separan según su relación de masa a carga iónica dando lugar, una vez registrados en forma adecuada al espectro de masas característico de la citada sustancia (Dabrio, 1973). Por otra parte, la espectrometría de masas puede identificar de

manera casi inequívoca cualquier sustancia pura, pero normalmente no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separar previamente sus componentes, debido a la extrema complejidad del espectro obtenido por superposición de los espectros particulares de cada componente (Gutiérrez y Droguet, 2002).

Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas (CG-EM).

La Espectrometría de Masas (EM) y la Cromatografía de Gases (CG) han demostrado en gran número de laboratorios de todo el mundo, su versatilidad como medios analíticos para la determinación estructural y separación del compuesto orgánico. Ambas técnicas han alcanzado un alto grado de desarrollo en sus diversas facetas prácticas, habiéndose convertido en dos métodos analíticos en los que se juntan una gran rapidez, sensibilidad y poder resolutivo (Dabrio, 1973).

La CG-EM consiste en inyectar la mezcla en el cromatógrafo de gases, el cual separa los componentes individualmente en una columna cromatográfica, luego éstos pasan inmediatamente al espectrómetro de masas. Cada uno de los componentes se registra en forma de pico cromatográfico y se identifica mediante su respectivo espectro de masas (Gutiérrez y Droguet, 2002). Estas técnicas permiten una confirmación

precisa y/o determinación de la estructura de la sustancia que se estudia (Dabrio, 1973).

Índice de Kovats.

Kovats Kovats, propuso un sistema de índices de retención que sirve como base para el análisis cualitativo de los componentes de mezclas complejas (identificación tentativa). El sistema de los índices de retención de Kovats se basa en una comparación entre la posición del pico de un analito en el cromatograma y los picos correspondientes a hidrocarburos lineales, uno de los cuales eluye antes del componente de interés y el otro después, utilizando la siguiente relación matemática para calcularlos, en el caso de que sea una corrida cromatográfica con programación de temperatura (Ariza, 2008).

Los componentes individuales son identificados mediante la comparación de sus tiempos de retención y sus índices de retención (Índices de Kovats) con los de los componentes puros empleados como patrones de referencia, inyectados en las mismas condiciones cromatográficas que los aceites, y por la semejanza de los espectros de masas de los componentes a identificar con aquellos que se encuentran recogidos en la biblioteca NIST98 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD), así como con los espectros obtenidos para los componentes puros (Ariza, 2008).

El índice de retención de Kovats expresa el número de átomos de carbono (multiplicado por 100) de un hipotético alcano que tendría un tiempo

de retención igual al del componente de interés cuando se analizan bajo idénticas condiciones. Estos valores se obtienen por interpolación, relacionado el tiempo de retención del constituyente a identificar con los tiempos de retención de dos alcanos que eluyen inmediatamente antes y después de él (Ariza, 2008).

Usos de los aceites esenciales.

Son empleados en las industrias como perfumes, jabones y repelentes de insectos, en alimentación como especias, condimentos o fuentes de materias primas. Sus propiedades antisépticas, bactericidas, antiflogísticas, antiirreumáticas, antimicóticas y antihelmínticas se han aprovechado para la medicina natural como tratamiento, especialmente en infecciones bronquiales, urinarias y las causadas por las cortadas y quemaduras, relajan las contracciones intestinales y protegen los tejidos contra la acción de agentes atmosféricos. Asimismo ayudan a la polinización ya que atraen a los insectos por su aroma (Domínguez, 1973; Albornoz, 1980 y Marcano y Hasegawa, 1991).

Bacterias

Las bacterias son los organismos unicelulares más pequeños, estos son capaces de duplicarse por sí solos casi sin considerar el medio que los rodea, la estructura que esta posee es de tipo primitiva denominada

procariota en diferencia de las estructuras celulares más evolucionadas las cuales son denominadas eucariotas. Carecen de núcleo bien definido, mitocondrias y ribosomas (Murray, Rosenthal y Faller, 2009).

Sin embargo, tienen una estructura externa muy compleja como la pared celular. Suelen multiplicarse por simple división celular y fabrica con gran habilidad moléculas orgánicas compuestas y sustancias inorgánicas. El número de especies bacterianas es abundante; estas suelen estar extensamente distribuidas en la naturaleza: agua, suelo, aire, hombre, animales. Algunas especies pueden causar graves enfermedades (Barrios, 1988).

Clasificación Bacteriana

www.bdigital.ula.ve

Cuando se descubrió que las bacterias se tiñen con colorantes, surgió un criterio de agrupación, su afinidad tintorial. Así la tinción de Gram forma dos grandes grupos bacterianos: los Gram positivos y los Gram negativos (Romero, 2007). Al añadirse a la muestra violeta de genciana (colorante primario) este penetra todas las bacterias presentes en la preparación, y al agregarse el lugol, el yodo entra a las células y forma un complejo insoluble con el violeta de genciana, las bacterias cuya pared celular es más densa y constituida principalmente por peptidoglicano, se deshidratan y cierran los poros de la pared impidiendo la salida del complejo violeta de genciana-yodo, por lo tanto estas bacterias permanecen de color púrpura (Gram positivas), mientras que las bacterias Gram negativas debido a su alto contenido de

lípidos, al decolorarlas quedarán poros en la pared permitiendo la salida del complejo, y al adicionarse la safranina (colorante secundario) estas toman dicho colorante por lo que se observan de color rosado (Ramírez y cols., 2006).

Bacterias Gram positivas

Las bacterias de tipo grampositivas poseen una pared celular gruesa la cual consta de varias capas que están formadas principalmente por peptidoglucanos (150 a 500 Amstrong) que rodea la membrana citoplásmica, el péptidoglucano es un elemento clave para la estructura, la replicación y la supervivencia de las células en las condiciones hostiles en las que normalmente proliferan las bacterias. La célula grampositiva puede poseer también otros componentes, como los ácidos teicoicos y lipoteicoicos, y polisacáridos complejos (Murray, Rosenthal y Faller, 2009). Entre las cepas de bacterias grampositivas que se utilizaron en esta investigación están *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*.

Staphylococcus aureus: este es un agente patogénico que actúa como un microorganismo saprofito, se encuentra en la piel del individuo sano pero en ocasiones en que las defensas de la piel caen puede causar enfermedad. El principal grupo de riesgo son pacientes hospitalizados o inmunocomprometidos. Causan infección de piel y partes blandas, neumonía, sepsis con o sin metástasis (osteítis, artritis, endocarditis, abscesos localizados), orzuelos. Enfermedades por toxinas (síndrome de la

piel escaldada, síndrome del shock tóxico y gastroenteritis) (Murray, Rosenthal y Faller, 2009).

***Enterococcus faecalis*:** las bacterias *E. faecalis* se caracterizan principalmente por ser cocos grampositivos, anaerobios facultativos, estos pueden crecer en condiciones de temperatura, pH y osmolaridad extremas. Este es un tipo de bacteria de gran importancia en algunas patologías del ser humano, cabe considerar que del 100% de aislamientos de enterococos, el 85-95% se aísla *E. faecalis*. Es causante de infecciones en pacientes hospitalizados y de sepsias postoperatoria, estas bacterias son saprofitos habituales del tracto gastrointestinal y ocasionalmente forman parte de la flora vaginal y de la uretra masculina (Sitges y cols., 2006).

Bacterias Gram negativas.

Las bacterias gramnegativas presentan paredes celulares más complejas (tanto desde el punto de vista estructural como químico) comparadas con las células grampositivas. Una pared celular gramnegativa contiene dos capas situadas en el exterior de la membrana citoplásmica. Inmediatamente por fuera de la membrana citoplásmica se encuentra una delgada capa de peptidoglucano. Además, la pared celular gramnegativa no contiene ácidos teicoicos ni lipoteicoicos. En la parte externa de la capa de peptidoglucano se halla la membrana externa, la cual es exclusiva de las bacterias gramnegativas. La zona comprendida entre la superficie externa de la membrana citoplásmica y la superficie interna de la membrana externa se

conoce como espacio periplásmico (Murray, Rosenthal y Faller, 2009). Entre las cepas de bacterias gram negativas que se utilizaron en el presente trabajo están *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae*.

Escherichia coli: estas bacterias son bacilos gramnegativos, no esporulados, aerobios y anaerobios facultativos. Pertenecen a la familia Enterobacteriaceae y se caracterizan principalmente por su capacidad de fermentar la lactosa con producción de ácido y gas. Se desarrollan fácilmente, crecen en presencia de sales biliares y tienen la facultad para producir indol en agua de peptona. Se encuentra en el intestino del hombre y de los animales, pero en otros ambientes también como suelo y plantas (Pascual y Calderón, 2000).

Pseudomonas aeruginosa: este tipo de bacterias pertenecen a la familia Pseudomonadaceae, son bacilos rectos o ligeramente curvos, son móviles por medio de unos flagelos polares, utilizan glucosa en forma oxidativa y produce un pigmento difusible. Cuando crece en placas aparece como grandes colonias grises con una periferia en expansión, muestra β -hemolisis y muestran un brillo metálico. Es el pseudomonadal que se aísla con más frecuencia en muestras clínicas, también provoca infecciones óticas, cutáneas, óticas, urinarias y en las vías respiratorias altas, estas dos últimas son graves incluso potencialmente mortales en pacientes inmunodeprimidos. Por otro lado *P. aeruginosa* puede portar plásmidos de multirresistencia y

esta característica ha conducido a la aparición de algunas cepas resistentes a todos los antibióticos eficaces (Koneman, Procop, Scheckenberger y Woods, 2008).

Klebsiella pneumoniae: pertenece a la familia Enterobacteriaceae, poseen una capsula prominente que confiere el aspecto mucoso a las colonias aisladas y la mayor virulencia de los organismos *in vivo* (Murray, Rosenthal y Faller, 2009). Bastoncillos medianos se presentan solos o en pares, móviles, encapsulados, mesofílicos. Este tipo de bacterias se encuentran en los contenidos intestinales de los seres humanos, en el suelo y el agua (Ray y Bhunia, 2010).

Actividad Antibacteriana

Los microorganismos son seres vivos que solo se pueden observar con microscopio óptico o electrónicos, están constituidos por una o varias células y son capaces de realizar sus procesos vitales de crecimiento, generación de energía y reproducción independientemente de otras células, sean de la misma clase o de otra diferente (García, 2002).

El organismo humano está habitado por miles de especies bacterianas distintas; mientras algunas mantienen una relación parasitaria temporal, otras habitan en el ser humano de manera permanente. También se encuentran bacterias en el ambiente, como el aire que se respira, el agua que se bebe y los alimentos que se comen; aunque muchas de ellas son relativamente

avirulentas, otras son capaces de provocar enfermedades potencialmente mortales. La enfermedad puede deberse a los efectos tóxicos de los productos bacterianos (toxinas) o bien a la invasión de regiones corporales que acostumbran a ser estériles (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Las bacterias, son un tipo de microorganismo que poseen una estructura relativamente simple, por ello sobreviven y crecen incluso en ambientes hostiles. Aunque la pared celular que rodea a las bacterias es compleja, y existen dos formas básicas: una pared celular grampositiva con una gruesa capa de peptidoglucano, y una pared celular gramnegativa con una delgada capa de peptidoglucano, así como una membrana externa. Algunas bacterias carecen de pared celular y compensan su ausencia sobreviviendo tan sólo en el interior de células del organismo anfitrión o en un ambiente hipertónico (Murray, Rosenthal y Pfaller, 2009).

Debido a que sobreviven fácilmente aun en ambientes hostiles, es que se hace necesario buscar agentes que combatan su fácil multiplicación, de ahí los antibacterianos. Estos dañan a los patógenos perturbando la síntesis de la pared celular bacteriana, inhibiendo la síntesis de proteínas o de ácidos nucleicos, alterando la estructura y la función de la membrana, o bloqueando vías metabólicas por la inhibición de enzimas claves (Prescott, Harley y Klein, 1999).

Clasificación de agentes antibacterianos.

El descubrimiento de la penicilina en 1929 y su posterior introducción en clínica supuso una verdadera revolución en el tratamiento de la patología infecciosa. Desde entonces, se han incorporado a la práctica clínica decenas de familias de antimicrobianos, con actividad frente a bacterias, hongos, parásitos y virus (Calvo y Martínez, 2009).

El uso de los agentes antimicrobianos en la terapéutica de las enfermedades infecciosas, ha constituido un acontecimiento sin precedentes, porque la curación y control de las infecciones permitió modificar favorablemente el panorama de la morbilidad y mortalidad del adulto, en el que estas afecciones ocupan el primer lugar entre las causas de muerte (Calvo y Martínez, 2009).

El desarrollo de la antibioticoterapia en la actualidad, permite un eficaz tratamiento de infecciones bacterianas agudas y algunas enfermedades crónicas, pues los nuevos antibióticos resultan alentadores para el control de enfermedades virales e infecciones parasitarias y micóticas. Los antibióticos son sustancias químicas producidas por diferentes especies de microorganismos (bacterias, hongos, actinomicetos) o sintetizados por métodos de laboratorio, suprimen el crecimiento de otros microorganismos y pueden eventualmente destruirlos (Cordiés, Machado y Hamilton, 1998).

Atendiendo a su efecto antibacteriano, los antimicrobianos se han clasificado tradicionalmente en bactericidas (ejercen una acción letal para la bacteria) o bacteriostáticos (sólo inhiben transitoriamente el crecimiento bacteriano). Cada grupo de antibióticos actúa preferentemente de una forma u otra, aunque un mismo antibiótico puede comportarse como bactericida o bacteriostático, dependiendo de la concentración que alcance en la diana, o de su afinidad por la diana de un determinado microorganismo. En general, son bactericidas los que actúan inhibiendo la síntesis de la pared, alterando la membrana citoplásmica o interfiriendo con algunos aspectos del metabolismo del ADN, y bacteriostáticos los que inhiben la síntesis proteica, excepto los aminoglucósidos (Calvo y Martínez, 2009).

Inhibidores de la síntesis de la pared bacteriana: La pared celular protege la integridad anatomofisiológica de la bacteria y soporta su gran presión osmótica interna. La ausencia de esta estructura condicionaría la destrucción del microorganismo, inducida por el elevado gradiente de osmolaridad que suele existir entre el medio y el citoplasma bacteriano (Calvo y Martínez., 2009).

La síntesis de la pared celular se desarrolla en 3 etapas, sobre cada una de las cuales pueden actuar diferentes compuestos: la etapa citoplásmica, donde se sintetizan los precursores del peptidoglucano; el transporte a través de la membrana, y la organización final de la estructura del peptidoglucano, que se desarrolla en la parte más externa de la pared.

Este grupo de inhibidores son: β -Lactámicos, Penicilinas, combinación de β -Lactámico/ inhibidor de β -Lactamasas, Cefalosporinas, Carbapenemos, Monobactámicos y Glucopéptidos (Calvo y Martínez., 2009).

Inhibidores de la función de la membrana citoplasmática: La membrana citoplasmática es vital para todas las células, ya que interviene activamente en los procesos de difusión y transporte activo y de esta forma controla la composición del medio interno celular. Las sustancias que alteran esta estructura modifican la permeabilidad y provocan la salida de iones potasio, elementos esenciales para la vida bacteriana, o la entrada de otros que a altas concentraciones alteran el metabolismo bacteriano normal. Los antibióticos que actúan en esta estructura son los polipéptidos (Calvo y Martínez, 2009).

Inhibidores de la síntesis de proteínas: La síntesis proteica es uno de los procesos más frecuentemente afectados por la acción de los antibacterianos y su inhibición selectiva es posible gracias a las diferencias estructurales entre los ribosomas bacterianos y eucariotas. Los ribosomas bacterianos están formados por dos subunidades (30S y 50S), que contienen ARN ribosómico (ARNr 16S en la subunidad 30S, y ARNr 5S y ARNr 23S en la subunidad 50S) y diversas proteínas llamadas S (small o pequeña, en la subunidad 30S) o L (large o grande, en la subunidad 50S). En esta estructura diferentes componentes pueden ser lugares de unión para los

antibacterianos. A este grupo pertenecen: aminoglucósidos, macrólidos y tetraciclinas (Calvo y Martínez, 2009).

Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos: El genoma bacteriano contiene información para la síntesis de proteínas que se transmite a través del ARN mensajero producido a partir del molde de ADN (transcripción), y para la síntesis de ARN ribosómico que formará parte de los ribosomas bacterianos. La información del ADN debe duplicarse (replicación) cuando la bacteria se divide, para transmitir esta información a la descendencia. La replicación y la transcripción del ADN se realizan en varias fases con la participación de diferentes enzimas y sustratos, además del ADN molde, que constituyen dianas para la acción de diversos antibióticos. Dentro de este grupo incluimos las rifamicinas y las quinolonas que actúan en enzimas que participan en los procesos de transcripción y replicación, y los nitroimidazoles y nitrofuranos que actúan directamente sobre el ADN, dañándolo (Calvo y Martínez, 2009).

No se puede obviar que existen bacterias que pueden llegar a ser resistentes a los antibióticos debido a mutaciones. Estos genes involucrados en la resistencia se localizan en el cromosoma y en elementos genéticos móviles como plásmidos y transposones (Asensio, 2000).

Resistencia bacteriana.

La resistencia que ejercen las bacterias a los antibióticos, antisépticos y desinfectantes, es un problema de salud pública que se creía superado. Desde el descubrimiento de los primeros antibióticos, los microorganismos han sido capaces de evadir su acción. Durante los últimos veinte años el uso indiscriminado de estos productos ha hecho que las bacterias dotadas de múltiples mecanismos (bioquímicos, genéticos-moleculares y celulares) desarrollen estrategias inherentes y adquiridas, que les permiten evadir con efectividad la acción de estos compuestos. Otros factores que contribuyen al desarrollo de la resistencia son: medidas ineficientes para el control de infecciones en los centros hospitalarios, la falta de campañas educativas en el uso y manejo de los medicamentos, severidad de las enfermedades y el manejo de pacientes, colonización previa por microorganismos con resistencias múltiples, procedimientos invasivos como cateterización y diálisis, entre otros. En la actualidad se ha obtenido un avance considerable en la comprensión de la respuesta de las bacterias a los bactericidas. La resistencia puede ser una propiedad natural de un organismo (intrínseca) o conseguida por mutación o adquisición de plásmidos o transposones (Cabrera, Gómez y Zuñiga, 2007).

Mecanismos de resistencia natural.

Las bacterias pueden presentar resistencia a antibióticos como resultado de mutaciones cromosomales o por intercambio de material genético mediante el transporte de genes de resistencia a través de varios mecanismos como (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007):

- **Transducción:** transferencia de cualquier parte de un genoma bacteriano, cuando un fago atemperado (genoma del virus que se encuentra inserto en el ADN bacteriano) durante su fase de ensamblaje, encapsula este material. Si el fragmento de ADN que queda envuelto es totalmente bacteriano se denomina transducción generalizada y si sólo se encapsula parte del genoma bacteriano pero se conserva el genoma viral se habla de transducción especializada (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).
- **Conjugación:** transferencia de material genético contenido en plásmidos de una bacteria a otra a través de una hebra sexual; estos plásmidos usualmente contienen genes que le confieren resistencia a drogas, antisépticos y desinfectantes (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).
- **Transformación:** transferencia de genes desde un ADN desnudo de una bacteria previamente lisada a otra que lo recibe y lo incorpora a su genoma (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).
- **Transposición:** movimiento de una sección de ADN (transposon) que puede contener genes para la resistencia a diferentes antibióticos y otros

genes casete unidos en equipo para expresión de un promotor en particular (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).

Mecanismos de resistencia adquirida.

Existen cuatro mecanismos de resistencia adquirida. Las bacterias pueden utilizar más de un mecanismo (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007):

- **Modificación enzimática o destrucción del antibiótico:** es el mecanismo de resistencia que utilizan algunas bacterias contra medicamentos betalactámicos. El ejemplo más representativo son las betalactamasas, enzimas que inactivan el antibiótico al hidrolizar el anillo betalactámico de la molécula. Otra clase importante de antibióticos que son destruidos por enzimas, son los aminoglicósidos. Se sabe que hay tres tipos de modificaciones catalizadas por O-fosfotransferasas (OPH), O-adeniltransferasas (ANT) y N-acetiltransferasas (ACT) que inactivan estos medicamentos (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).
- **Impermeabilidad al antibiótico:** existen diferencias en la composición de la envoltura celular de las bacterias y en especial en la cantidad del peptidoglicano junto con grandes proteínas de membrana externa llamadas porinas. Estas porinas varían en número y tamaño y funcionan como canales acuosos que generan una ruta hidrofílica a través de la estructura de la membrana hacia el espacio periplásmico. La resistencia se relaciona con la poca cantidad de moléculas de porina, las

mutaciones que resultan por la alteración de la forma y el número de las ya existentes, influyen en la permeabilidad a los antibióticos, por lo cual se presentan diversos tipos de resistencia a través de la membrana (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).

- **Alteración o producción de nuevos sitios blanco:** los cambios en el sitio blanco del antibiótico son uno de los mecanismos más importantes de resistencia a los antibióticos, pues evitan el efecto bactericida/bacteriostático que estimula la resistencia. Por ejemplo, el mecanismo más común de resistencia implica la modificación del sitio blanco en el ribosoma, efectos debidos a la mutación que afectan los sitios blanco (ADNgirasa y topoisomerasa) del medicamento, alteración de las proteínas que unen penicilina y evita así la acción del antibiótico. Muchas clases de antibióticos, por ejemplo, betalactámicos, glicopéptidos y quinolonas, pueden disminuir su eficacia debido a cambios o producción de nuevos sitios blanco (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).
- **Presencia de bombas de eflujo que expulsan el antibiótico:** El mecanismo de eflujo para múltiples agentes antimicrobianos contribuye a la resistencia intrínseca y adquirida contra tales agentes. El análisis del genoma de bacterias grampositivas y gramnegativas ha confirmado la amplia distribución de estos sistemas. Este modo de resistencia puede llegar a disminuir o inclusive suprimir la susceptibilidad a un

amplio rango de antimicrobianos. El diseño de eflujo (bomba) es mediado por proteínas de transporte, que confieren resistencia a los componentes tóxicos (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).

Técnicas para determinar la actividad antibacteriana.

Para la valoración y evaluación de actividad antimicrobiana de una sustancia de origen vegetal se utilizan diversos métodos, los cuales se rigen por diversos factores: técnicas de ensayo, el medio de cultivo y el material biológico o vegetal (aceite esencial). La apropiada selección y uso de un agente antibacteriano están basados en las características del organismo etiológico y en el patrón de susceptibilidad, el huésped y el fármaco. Los antibiogramas son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y están indicados para cultivos bacterianos clínicamente relevantes (por ejemplo: fluidos normalmente estériles o sitios clínicamente infectados) cuando la susceptibilidad no puede ser predicha (Wayne, 1997).

La determinación de la concentración mínima inhibidora (CMI) es la medida de la sensibilidad de una bacteria a un antibiótico. Es la mínima cantidad de antibacteriano que es capaz de impedir el crecimiento de un microorganismo en unas condiciones normalizadas. Es el método habitual utilizado en los laboratorios de Microbiología Clínica. Para llevarlo a cabo es necesario utilizar cepas control (de referencia) con el fin de que los resultados sean reproducibles y comparables. Este método nos ofrece

información sobre la sensibilidad de las bacterias S (sensible), I (intermedia) y R (resistente) (Wayne, 1997).

- **Método de tiras de epsilon:** Es un método alternativo para el estudio cuantitativo de la sensibilidad antimicrobiana, sencillo y se correlaciona bien con el método de dilución de caldo. Consiste en una tira de plástico no poroso que incorpora un gradiente predefinido de antimicrobiano, se inocula la placa de agar con el microorganismo, se coloca la tira de Etest sobre su superficie produciéndose la difusión del antibiótico desde el soporte hasta el agar. Tras la incubación se puede observar una zona de inhibición elipsoidal y simétrica (Wayne, 1997).

- **Dilución en caldo:** El crecimiento se realiza en un medio líquido, en el que se ha realizado una dilución conocida del antimicrobiano. En función del volumen de medio utilizado tenemos dos tipos. Macrodilución que es el volumen superior o igual a 1mL y microdilución suelen emplear volúmenes de 0,1mL (Wayne, 1997).

- **Método de difusión en agar (Kirby-Bauer):** Método muy utilizado para el estudio de la sensibilidad de las bacterias, se basa principalmente en la inhibición del crecimiento de la bacteria alrededor de un disco con antibacteriano que difunde en un medio sólido. La bacteria es sembrada en una superficie con un medio de cultivo, sobre el que se depositan unos discos de papel cargados con cierto antibiótico que difunde instantáneamente por el agar, formándose un gradiente de concentración del

mismo alrededor del agar. Cuando el microorganismo crece se forman unos halos de inhibición, que luego son comparados con valores de referencia y se evalúa la sensibilidad (Wayne, 1997).

- **Método de difusión de agar (Kirby – Bauer) en pozo modificado.**

El método de difusión en agar, está apoyado por datos clínicos y de laboratorios; y presenta la ventaja que sus resultados son altamente reproducibles (Barry, Amsterdam, Coyle, Gerlach y Thornsberry, 1979).

La técnica está basada en el método originalmente descrito por Bauer y cols., (método de Kirby-Bauer). Este método de difusión en pozo fue estandarizado y es actualmente recomendado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, de Estados Unidos. El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos (National Committee for Clinical Laboratory, 1997; Picazo, 2000).

El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado mezclado con el inóculo de la bacteria correspondiente y sobre el cual una vez solidificado se realizan los pozos de forma equidistante con la inversa de una pipeta Pasteur estéril. A continuación se procede a su

incubación a temperatura adecuada por 24 horas (Bata, Debiao y Saikia, 2006). Luego se mide el halo de inhibición y se comparan los efectos de las distintas sustancias sobre el microorganismo estudiado, con el antibiótico de control. La lectura de los resultados representa la actividad *in vitro* de la sustancia.

www.bdigital.ula.ve

Definición Operacional de Términos

Producto natural

Es toda sustancia de origen orgánico o inorgánico denominada también metabolito secundario, que se encuentra en la naturaleza y es sintetizado por seres vivos, generalmente plantas, con una estructura molecular y una acción biológica determinadas. Su formación comienza en la fotosíntesis, luego de la cual los fragmentos pequeños se recombinan para generar las grandes moléculas. Estos pueden ser aislados y procesados por el hombre con el fin de realizar medicamentos preparados a partir de drogas crudas mejoradas, exentas de sustancias de origen sintético, libres de aditivos químicos orgánicos o inorgánicos (Marcano y Hasegawa, 1991; Albornoz, 1997).

Principio activo

Son los componentes principales de las plantas medicinales o los llamados principios activos. Los principios activos son muy importantes, su descubrimiento se basó en investigaciones sobre el uso que las culturas tradicionales de diferentes comunidades hacían desde tiempos remotos de ciertas plantas (Martínez, 2006). Los principios activos de los vegetales utilizados en la medicina aparecen en toda la planta, ya sea en las flores, semillas, hojas, tallos o frutos. Estos principios pueden variar a lo largo en una misma especie y en una misma planta de acuerdo a muchos factores

como por ejemplo la época del año, características del suelo, su altura, localización geográfica (Chiriboga, 2005).

Fitoquímica

Por definición, la fitoquímica es el estudio de los componentes químicos de las plantas. La separación de los componentes es una etapa importante en un análisis fitoquímico. Los métodos más empleados son los físicos y dentro de ellos, los de mayor aplicación son los métodos cromatográficos: cromatografía en capa fina (CCF) y cromatografía en columna (CC) (Ríos y cols., 2013)

Medicamento.

Los medicamentos son productos utilizados para auxiliar en la cura, prevención y diagnóstico de enfermedades. Estos productos tienen como base una o más sustancias, el denominado principio activo (fármaco). No se debe pensar que medicamentos y drogas son la misma cosa. El término droga designa a cualquier sustancia de origen animal, vegetal o mineral de donde es extraído el principio activo (fármaco). El término fármaco, por su parte, se refiere de forma específica al principio activo aislado que es la sustancia que ejerce la acción en el organismo y será la base del medicamento (Mendoza y García, 2009).

Operacionalización de las Variables

Una variable es toda característica susceptible de cambiar o adoptar, en forma cualitativa o cuantitativa, distintos valores, calidad, cantidad o dimensión. En una investigación las variables constituyen las diferentes características que presenta la población estudiada. Según Arias (2006) operacionalizar una variable es establecer el significado de la misma, con base en la teoría. En tal sentido, las variables de esta investigación fueron las siguientes: Variable dependiente (VD): Actividad antibacteriana del aceite de hojas y flores de la especie *Baccharis nitida* (tabla 5). Variable independiente (VI): Componentes químicos volátiles presentes en los aceites obtenidos de los tallos hojas y flores de la especie *Baccharis nitida* (tabla 6).

Tabla 5. Operacionalización de la variable dependiente.

Variable Dependiente	Definición conceptual	Dimensión operacional	Dimensiones	Indicadores
Actividad antibacteriana del aceite de hojas y flores de la especie <i>Baccharis nitida</i>	El fundamento de esta determinación es establecer, en forma cuali-cuantitativa, el efecto de un conjunto de componentes químicos sobre las cepas bacterianas grampositivas y gramnegativas. (Picazo, 2000).	La actividad antibacteriana se puede medir usando el método de difusión en agar Kirby-Bauer en pozo modificado.	Bacterias grampositivas: <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> Bacterias gramnegativas: <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Presencia o ausencia de halos de inhibición (mm)

Fuente. Muñoz y Buitrago, 2020

Tabla 6.
Operacionalización de la variable independiente.

Variable independiente	Definición conceptual	Dimensión operacional	Dimensiones	Indicadores
Componentes volátiles presentes en los aceites obtenidos de las hojas, tallos y flores de la especie <i>Baccharis nitida</i>	Los aceites esenciales son mezclas complejas y variables de constituyentes que pertenecen casi exclusivamente a tres grupos caracterizados por orígenes biogenéticos; el grupo de los terpenoides, el grupo de los compuestos aromáticos derivados de fenilpropano y el grupo de los compuestos de origen diverso (Bruneton, 2001).	Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.	Terpenoides: Monoterpenos Sesquiterpenos. Compuestos aromáticos (alil, propenil fenoles y aldehídos).	Pico de Tiempo de retención y abundancia obtenida de los diferentes compuestos presentes en el aceite esencial. Índice de Kovats (tabulado y calculado)

Fuente: Muñoz y Buitrago, 2020.

Hipótesis

Estudios previos reportan que los aceites esenciales de varias especies del género *Baccharis* contienen compuestos químicos volátiles que tienen efectos antibacterianos, en tal sentido, es de esperar, que los aceites esenciales de la especie *Baccharis nitida* contenga compuestos relacionados y posean actividad antibacteriana contra cepas grampositivas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*) y gramnegativas (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*).

www.bdigital.ula.ve

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

A continuación se describe detalladamente los aspectos metodológicos que se emplearon en el desarrollo de esta investigación, en la cual se estudió la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de *Baccharis nitida*.

Tipo de Investigación

El tipo de investigación se define con base en el objetivo general, mientras que los diseños de investigación se definen con base en el procedimiento. Los tipos de investigación son: *exploratoria, descriptiva, analítica, comparativa, explicativa, predictiva, proyectiva, interactiva, confirmatoria y evaluativa* (Hurtado, 2000). Para dar respuesta a los objetivos planteados en la presente investigación, se trabajó mediante: la investigación confirmatoria y descriptiva.

Es confirmatoria, ya que este tipo de investigación tiene como propósito verificar hipótesis referidas a relaciones entre eventos o variables, derivadas de explicaciones o teorías. Son características fundamentales de esta investigación utilizar el método experimental

llamado “método científico” y supone que el conocimiento científico es verificable (Hurtado, 2000). Este trabajo respondió a este tipo de investigación ya que permitió verificar las hipótesis planteadas en el mismo y poder relacionar la variable dependiente e independiente.

Además fue de tipo descriptiva. La investigación descriptiva tiene como objetivo central lograr la descripción o caracterización del evento de estudio dentro de un contexto particular, estos estudios buscan especificar las propiedades importantes de persona, grupos, comunidades, objetos o cualquier otro evento sometido a investigación, es decir, mide diversos aspectos o dimensiones del evento investigado (Hurtado, 2000). En este caso específico se buscó describir el efecto antibacteriano de la especie *Baccharis nitida* ante una variedad de microorganismos Gram positivos (*S. aureus* y *E. faecalis*) y Gram negativos (*K. pneumoniae*, *E. coli* y *P. aeruginosa*) y también se describió la composición química del aceite de *Baccharis nitida*, para ello se identificaron y midieron la mayoría de sus componentes.

Diseño de la Investigación

El diseño de la investigación se define como “la estrategia que adopta el investigador para responder al problema planteado” (Arias, 2006). La presente investigación se basó en un estudio experimental en el que se pretendió describir la actividad antibacteriana representada en los halos de inhibición a partir del aceite obtenido de la especie *Baccharis nitida* frente a microorganismos patógenos, así como también caracterizar

la composición química de la misma. Significa entonces que, la especie vegetal se sometió a determinadas condiciones, estímulos o tratamiento, para observar los efectos o reacciones.

El estudio se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales del Instituto de Investigaciones y el Laboratorio de Actinomicetos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes. El diseño planteado (ver figura 5) para llevar a cabo la investigación se representa según las siguientes fases:

- **Fase I (De investigación):** esta etapa estuvo comprendida por la recopilación de todo el material bibliográfico (libros, tesis, artículos, publicaciones, información electrónica, entre otros) que se relacionaran con el tema a estudiar, la finalidad fue establecer un marco documental, relacionado con la disposición y acondicionamiento teórico del tema sujeto a investigación.
- **Fase II (la muestra):** la constituyó una etapa de campo, en la cual se hizo el reconocimiento preliminar del área de recolección de la muestra, se observó las características de las mismas y principalmente en esta etapa se hizo la recolección de la muestra. Específicamente se recolectó 260 g en flores, 680 g en hojas y 731 g de tallos de la especie.
- **Fase III (experimental):** representó la etapa o fase de laboratorio en la cual se preparó el material vegetal, se llevó a cabo la extracción del aceite esencial de las hojas, flores y tallos de la especie *B. nitida* y la

determinación de la composición química mediante la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas y finalmente se evaluó la actividad antibacteriana del aceite obtenido en flores y hojas.

- **Fase IV (sistematización):** esta fase constituyó la ordenación y sistematización de los resultados obtenidos en la fase experimental, tanto de la composición química como de la actividad antibacteriana de los aceites obtenidos.
- **Fase V (el análisis):** esta fase la comprendió el análisis de los resultados obtenidos, para ello se cotejó los datos obtenidos en la fase II con la información recabada en la fase I para así dar una caracterización completa de lo que se encontró en la investigación.

Ver figura siguiente, figura 5.

www.bdigital.ula.ve

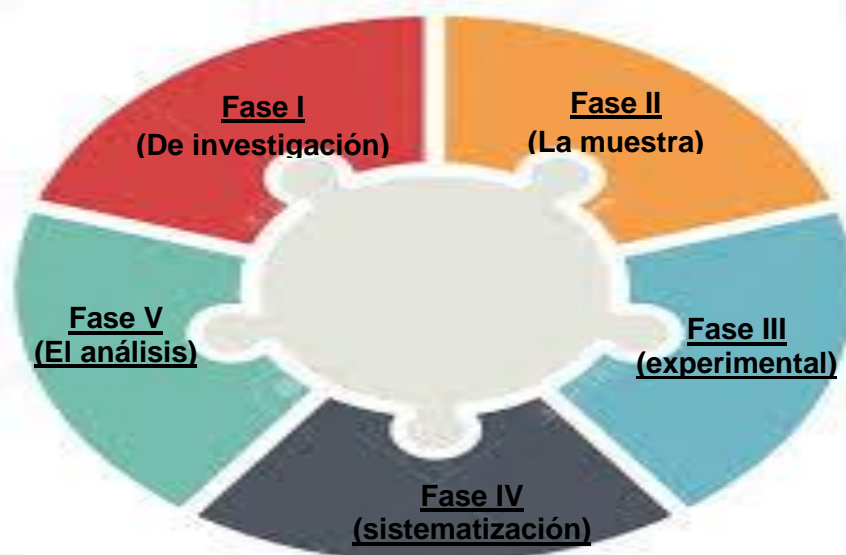


Figura 5. Diseño de investigación seguido en el trabajo desarrollado.

Población y Muestra

En este trabajo, la población estuvo representada por la especie vegetal *Baccharis nitida* (Asteraceae). Considerando que la población viene representada por el conjunto de elementos que presentaron características comunes que fueron objeto de estudio e hizo válidas las conclusiones a las que se llegaron (Arias, 2006).

Selección del Tamaño de la Muestra

La muestra que fue sometida a análisis la constituyeron las flores (260 g), hojas (680 g) y tallos (731 g) frescos de la especie vegetal *Baccharis nitida* (Asteraceae), de la cual se extrajo el aceite esencial, estas fueron recolectadas en el Municipio Miranda, Sector Pico el Águila, estado Mérida. Se recolectaron en total 1,671 g de la especie vegetal. La determinación botánica fue desarrollada por el Ing. Juan Carmona, adscrito al Departamento de Farmacognosia y Medicamentos Orgánicos de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes.

Sistema de Variables

Las variables planteadas en este trabajo quedaron establecidas de la siguiente manera:

Variable Independiente (VI).

Componentes químicos presentes en los aceites esenciales obtenidos de los tallos, hojas y flores de la especie *Baccharis nitida*.

Variable Dependiente (VD).

Actividad antibacteriana del aceite esencial de hojas y flores de la especie *Baccharis nitida*.

Instrumento de Recolección de Datos

Los instrumentos que se utilizaron para la recolección de datos fueron fotografías y tablas donde se registraron los resultados de la composición química y actividad antibacteriana del aceite esencial de la especie *Baccharis nitida*.

En principio los datos se recolectaron a partir de la literatura usada en este estudio, es decir, tomando en cuenta las características de la planta en cuanto a su disponibilidad y tratamiento. Seguido del estudio retrospectivo de la especie, para de esta manera alcanzar los objetivos deseados.

Procedimientos de la Investigación

En vista de que la investigación se llevó a cabo en 5 fases (de investigación, muestra, experimental, sistematización y análisis) se señala entonces las técnicas e instrumentos usados en cada una de las fases.

Fase I (De investigación): la información se recolectó a través de instrumentos como computadoras, teléfonos móviles, internet. Se usó como técnica principal el resumen y análisis de contenido.

Fase II (la muestra): En la recolección del material vegetal (*Baccharis nitida*) se usó la técnica de podamiento, la misma se llevó a cabo en el Municipio Miranda, Sector Pico el Águila, estado Mérida, se observó el estado de la materia prima, se limpió y verificó que ésta cumpliera con las características exigidas; se clasificó el producto teniendo en cuenta defectos, como unidades que llegaron deformes o que no tuvieran el estado de madurez óptimo.

Una muestra se depositó en el Herbario MERF “Dr. Luis Ruiz Terán” de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes (ULA) Mérida, Venezuela.

➤ **Fase III (experimental):**

La fase experimental estuvo comprendida en varios pasos:

Paso 1: Preparación del material vegetal.

Luego de la recolección del material botánico, se seleccionaron sus partes aéreas (flores, hojas y tallos por separado) y se trocearon en pequeñas porciones. Posteriormente se pesó el material a utilizar, en este caso, las flores pesaron 260 g las hojas 680 g y el tallo 731 g para poder obtener el aceite esencial y su posterior análisis.

Paso 2: Obtención del aceite esencial de la especie *Baccharis nitida*.

Según Akrou, Chemli, Chreif y Hammami (2001) en el proceso de extracción del aceite esencial en una especie vegetal es necesario romper las células que contienen los aceites aromáticos y así lograr un mayor rendimiento en la obtención de tales aceites. Es por ello, que para lograr el objetivo de extracción, las flores, hojas y tallos de *Baccharis nitida* se licuaron y luego se hizo la extracción mediante la hidrodestilación, empleando una trampa de Clevenger. Para ello, las plantas muestreadas se someten individualmente a destilación con agua o hidrodestilación con un sistema tipo Clevenger (European Pharmacopeia, 1990). El sistema consta de manta calefactora, matraz esférico de 20 L de capacidad, tapa para matraz, tubo colector de esencias con escala de 2 ml, y refrigerante.

El material vegetal recolectado, tras ser desecado y pesado, se deposita en el interior del matraz de destilación, añadiendo agua. Se sitúa el matraz en la manta calefactora y se cubre con la tapa, sellándose la unión entre ambos utilizando silicona y una abrazadera metálica para evitar pérdidas de sustancias volátiles. El tubo colector se acopla al cuello de la tapa, y finalmente, en la parte superior del colector de esencias se coloca el refrigerante, a través del cual circula agua fría. Cuando la manta calefactora calienta el agua del matraz y ésta entra en ebullición, el vapor de agua arrastra el aceite esencial de la muestra, de naturaleza volátil, y ambos condensan en el refrigerante. La diferencia de densidad entre las dos fases (agua y aceite esencial) permite la separación de ambas sustancias. La fase acuosa se va reciclando al matraz de destilación, con

lo que se reduce la posibilidad de que pequeñas cantidades de componentes del aceite puedan quedar retenidas en el agua. Este proceso se prolonga durante 3 horas, para asegurar la extracción de todos los constituyentes volátiles de la planta.

Transcurrido ese tiempo, el aceite esencial se recupera directamente del tubo colector, y su volumen es medido en una probeta. Para eliminar los restos de agua de la muestra se emplea sulfato sódico anhidro, y finalmente, los aceites se depositan en viales ámbar de 2 ó 4 ml, y se conservan a 4 °C para su posterior análisis cromatográfico. Se obtuvo 0,7 mL de aceite de las flores, 1,4 mL de aceite de las hojas y 0,3 mL de aceite de los tallos.

Luego de la extracción del aceite esencial, se procedió a identificar sus componentes a través del método de cromatografía de gases acoplada a la espectroscopia de masas (CG-EM). Los componentes volátiles presentes en cada muestra de aceite esencial fueron identificados y cuantificados mediante cromatografía gaseosa capilar, empleando para ello un cromatógrafo Agilent 5890 Serie II, equipado con un detector de ionización de llama (FID). La cromatografía de gases es la técnica más adecuada para el estudio de estos aceites, ya que presenta una elevada sensibilidad y una gran eficacia en la separación de los distintos constituyentes de estas sustancias.

Se analizaron muestras de 0,1 µL de aceite esencial, y la separación se realiza en una columna capilar HP-5 (5% Fenil Metil Siloxano entrecruzado) de 30 m de longitud, 0,25 mm de diámetro interno

y 0,25 μm de espesor de fase estacionaria. El detector y el inyector se mantienen a 280 y 250 $^{\circ}\text{C}$ respectivamente. Se empleó helio como gas portador, con un flujo a través de la columna de 1 mL/min, que se mantuvo constante durante todo el análisis. Dada la elevada concentración a la que se encuentran los constituyentes volátiles de estos aceites, la inyección se realizó con una relación de división de flujo (split ratio) de 100:1.

La identificación rigurosa de los diferentes constituyentes del aceite esencial detectados mediante Cromatografía de Gases (FID), se complementó con análisis por Espectrometría de Masas de los perfiles volátiles de dichos aceites.

Para ello, las muestras se inyectaron en un cromatógrafo de gases Agilent 6890N, acoplado a un espectrómetro de masas 5973 inert como detector. En este caso, se emplearon dos columnas distintas que separaron los componentes en función de diferentes características: una columna HP-5 igual a la descrita anteriormente, de naturaleza ligeramente polar, que separa los componentes en base a su punto de ebullición, y una columna DB-WAXETR (polietilenglicol ligado) de 30 m de longitud, 0,32 mm de diámetro interno y 1 μm de espesor de fase estacionaria, capaz de separar los constituyentes de los aceites considerando también su polaridad.

Las condiciones cromatográficas, en el caso de la columna HP-5, son idénticas a las ya expuestas para el cromatógrafo de gases equipado con FID. Con la columna DB-WAXETR, el volumen de muestra inyectado

fue igualmente de 0,1 μL , usándose una relación de división de flujo de 100:1. El gas portador es también helio, con un flujo constante de 1 mL/min en columna. Las temperaturas de inyector y detector coinciden con las detalladas en el apartado anterior.

Los componentes individuales son identificados mediante la comparación de sus tiempos de retención y sus índices de retención (Índices de Kovats) con los de los componentes puros empleados como patrones de referencia, inyectados en las mismas condiciones cromatográficas que los aceites, y por la semejanza de los espectros de masas de los componentes a identificar con aquellos que se encuentran recogidos en la biblioteca NIST98 (National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, MD), así como con los espectros obtenidos para los componentes puros.

El índice de retención de Kovats expresa el número de átomos de carbono (multiplicado por 100) de un hipotético alcano que tendría un tiempo de retención igual al del componente de interés cuando se analizan bajo idénticas condiciones. Estos valores se obtienen por interpolación, relacionado el tiempo de retención del constituyente a identificar con los tiempos de retención de dos alcanos que eluyen inmediatamente antes y después de él. Para calcular los índices de Kovats se han empleado hidrocarburos alifáticos de 6 a 17 átomos de carbono, obteniéndose para cada uno de ellos su correspondiente tiempo de retención. El punto de ebullición de estos hidrocarburos se incrementa a medida que aumenta la longitud de su cadena, representándose

gráficamente los tiempos de retención que corresponden a cada hidrocarburo en función de su número de átomos de carbono.

A continuación se presentan los procedimientos antes descritos, ver figura 6.

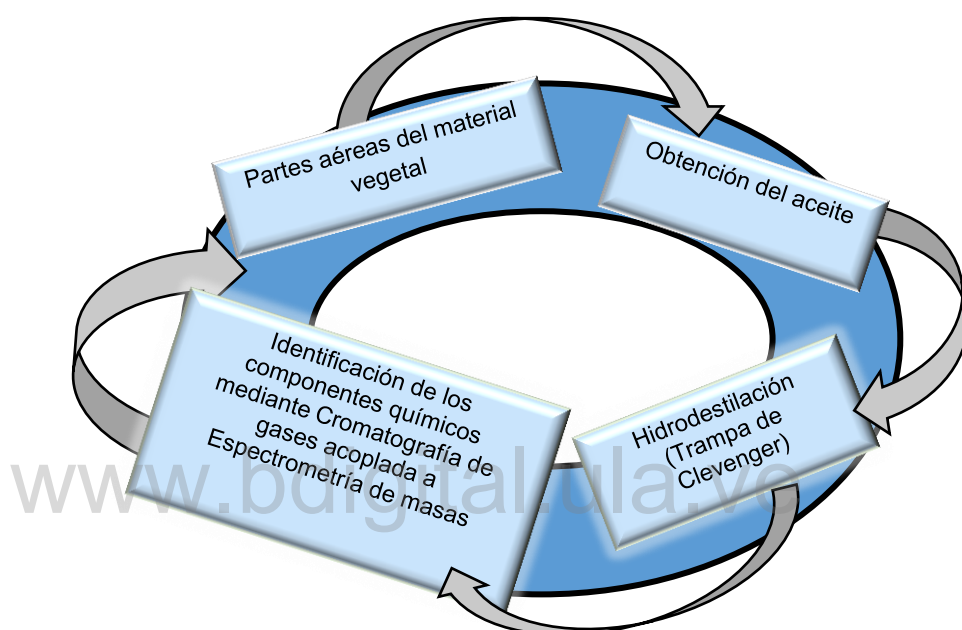


Figura 6. Procedimiento empleado en la obtención del aceite esencial de *Baccharis nitida* y su identificación química

Paso 3: Determinación de la actividad antibacteriana del aceite esencial extraído de las flores y hojas de *Baccharis nitida*.

Bacterias de ensayo.

Se seleccionaron 5 especies de las cuales 2 son bacterias grampositivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus*

fecalis ATCC 29212), y 3 especies bacterianas son gramnegativas (*Klebsiella pneumoniae* ATCC 23357, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomona aeruginosa* ATCC 27853). En concordancia con Lizcano y Vergara, (2008) tales microorganismos fueron seleccionados bajos los siguientes criterios:

- Representan diferentes grupos (gram positivos y gram negativos)
- Son agentes patógenos para humanos, por su relación con los diferentes cuadros clínicos que causan.
- Crean resistencia a antibióticos con facilidad.
- Son cepas certificadas por la ATCC

Preparación de los pre-inóculos bacterianos.

Las cepas a ensayar se incubaron en agar Müller–Hinton a 37 °C por 16 a 18 horas antes de hacer el ensayo microbiano, ya que es en ese tiempo donde las bacterias adquieren los nutrientes necesarios para su crecimiento, específicamente cuando alcanzan su fase exponencial o de multiplicación en la curva de crecimiento bacteriano (Anon, 2003). Una vez que se obtuvieron las cepas bacterianas frescas y purificadas se preparó el inóculo bacteriano con la ayuda de una asa en aro estéril, tomándose de ésta manera una pequeña cantidad de colonias para luego ser suspendidas en una solución de NaCl al 0,85% previamente estéril, hasta alcanzar la turbidez del patrón de MacFarland N–0,5 equivalentes a 10^{6a8} UFC/mL.

Preparación de las placas.

A cada placa se le colocaron 20 mL del agar Müller–Hinton previamente preparado y esterilizado a una temperatura no superior los 40°C mezclado con 2 mL de la suspensión de esporas, posteriormente se dejó solidificar a temperatura ambiente.

Determinación de la actividad antibacteriana por el método de difusión de agar (Kirby – Bauer) en pozo modificado.

A cada placa solidificada y preparada con el medio e inculo bacteriano se les procedió a realizar los pozos con la inversa de una pipeta Pasteur estéril quedando unos pozos de (6 mm), a cada pozo se le adicionaron 20 µL de la muestra (aceite esencial puro); el control positivo representado por el antibiótico comercial (Solución de oxitetraciclina 5 mg/mL) con el fin de medir la sensibilidad de los microorganismos a evaluar y el control negativo representado por el Dimetil sulfóxido (DMSO).

Pre-incubación e incubación.

Después de preparadas las placas, éstas se dejaron a temperatura ambiente por 30 minutos para que las muestras difundan (preincubación); y finalmente se incubaron a 37 °C por 24 horas en atmósfera aeróbica.

Lectura de los halos de inhibición.

Finalizado el tiempo de incubación se procedió a medir con una regla milimetrada la zona clara alrededor del pozo de cada una de las placas

que contienen las cepas bacterianas a estudiar, el control positivo representado por el antibiótico comercial (oxitetraciclina 5 mg/ml) con el fin de medir la sensibilidad de los microorganismos a evaluar y el control negativo representado por el Dimetil sulfoxido (DMSO) el cual se utilizó para disolver la muestra. El procedimiento seguido para determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial se representa en la figura 7.

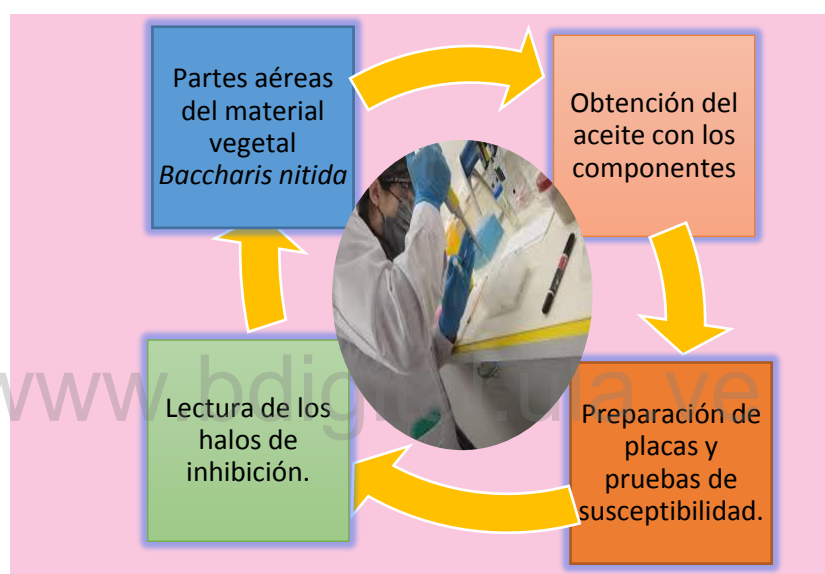


Figura 7. Procedimiento empleado para determinar la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Baccharis nitida*.

Fase IV (sistematización): los datos obtenidos se procesaron en computadora a través de Microsoft Word, se elaboraron tablas a partir de los datos obtenidos en la composición química y la actividad antibacteriana.

Fase V (el análisis): para la fase del análisis se recurrió al uso de la técnica denominada “análisis de contenido”, para ello se tomó en cuenta la información recabada en la fase I (de investigación) junto con la información recabada en la fase III (experimental) y fase IV (sistematización), para así con toda la información que se obtuvo durante todo el proceso de investigación poder describir y caracterizar de forma específica la especie que se estudió.

Diseño de Análisis

Al culminar la fase de recolección de la información, los datos encontrados deben ser sometidos a un proceso de elaboración técnica, así se cuentan y resumen para ser analizados (Balestrini, 2006).

Balestrini 2006, explica que la información recabada puede ser presentada de manera organizada a través de la representación escrita y la representación gráfica. La representación escrita es aquella donde se incorpora los datos encontrados en forma de texto a partir de una descripción de los mismos y la representación gráfica hace referencia a aquellas técnicas que permiten representar los fenómenos estudiados a través de figuras como tablas y entre otros. En este caso, se buscó describir los datos cualitativos y cuantitativos tanto de los componentes químicos como de la actividad antibacteriana del aceite de *Baccharis nitida*, para ello se hizo una representación gráfica que permitiera describir y comparar los valores obtenidos con otras investigaciones y analizarlas de forma general.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados

Resultados de los componentes químicos del aceite esencial de *Baccharis nitida* en hojas, flores y tallos.

En la extracción del aceite esencial de cada una de las partes de la especie *Baccharis nitida*, se obtuvo 0,7 mL y 0,27 % de rendimiento para el aceite de las flores; 1,4 mL y 0,21 % de rendimiento para el aceite de las hojas y 0,3 mL con un rendimiento de 0,04 % para el aceite de los tallos. La Tabla 7 presenta los componentes químicos del aceite esencial de la especie *B. nitida* (hojas), según cromatograma A.E *B. nitida* hojas (ver figura 12 en anexos).

Tabla 7.
Componentes químicos del aceite esencial de las hojas de *B. nitida*.

# Pico	Tiempo de retención	% Área	Componente	Índice Kováts (tab)
1	4,976	1,49	α -tujeno	930
2	5,133	7,07	α -pineno	939
3	6,002	6,35	Sabineno	975
4	6,102	5,82	β -pineno	979
5	6,408	31,15	Mirceno	990
6	6,896	0,83	δ -3-careno	1008
7	7,409	19,45	Limoneno	1031
8	7,558	1,14	2,2,6-trimetil-iclohexanona	1064
9	7,881	4,54	β -ocimeno	1050
10	8,204	1,16	γ -terpineno	1062
11	11,845	1,74	Terpinen-4-ol	1177
12	18,308	0,92	No identificado	
13	18,523	0,78	Berkeyaraduleno	1388
14	19,558	5,10	<i>trans</i> -Cariofileno	1418
15	21,370	2,01	Epizonareno	1459
16	23,679	6,11	Germacreno B	1559
17	25,839	1,20	α -Cubebeno	1583
18	26,807	3,15	No identificado	
% monoterpenos		79,6		
% sesquiterpenos		15,2		
% Otros compuestos		1,14		

El aceite esencial de las hojas de *B. nitida*, resultó contener 18 compuestos químicos, que se corresponden al 100% de la mezcla, de los cuales se identificaron el 95,94%. Los componentes mayoritarios encontrados fueron: Mirceno 31,15 % (monoterpeno), Limoneno 19,45% (monoterpeno), α -pineno 7,07% (monoterpeno), Sabineno 6,35% (monoterpeno), Germacreno B 6,11% (sesquiterpeno), β -pineno 5,82% (monoterpeno), *trans*-Cariofileno 5,10% (sesquiterpeno) y β -ocimeno 4,54% (monoterpeno) (Figura 8). Según el tipo de componentes encontrados se puede indicar que los mayoritarios son los monoterpenos

con un aproximado de 79,6 % y 15,2 % de sesquiterpenos del total de la muestra.

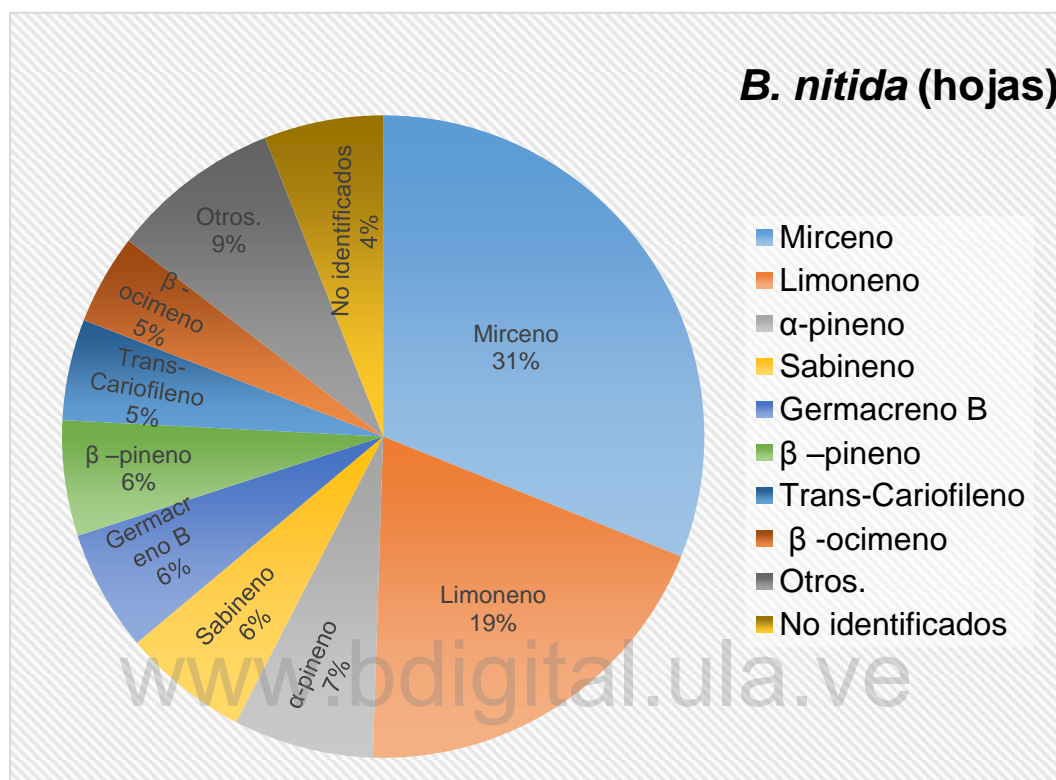


Figura 8. Componentes químicos identificados del aceite de la especie *B. nitida* (hojas).

La Tabla 8 presenta los componentes químicos del aceite esencial de *B. nitida* (flores):

Tabla 8.
Componentes químicos del aceite esencial de las flores especie *B. nitida*.

# Pico	Tiempo de retención	% Área	Componente	Índice de Kováts (tab)
1	5,150	2,29	α -Pinoeno	939
2	6,019	2,37	Sabineno	975
3	6,110	2,15	β -Pinoeno	979
4	6,425	22,38	Mirceno	990
5	6,913	0,86	γ -Terpineno	1062
6	7,409	5,83	Limoneno	1031
7	7,906	3,82	Trans-Ocimeno	1050
8	11,853	0,82	Terpinen-4-ol	1170
9	17,166	1,21	No identificado	1433
10	17,803	0,88	Nerol	1229
11	18,333	2,54	No identificado	
12	18,548	2,42	Berkeyraduleno	1418
13	19,152	1,08	Calareno	1433
14	19,608	15,63	trans-Cariofileno	1419
15	20,584	1,13	α -Humuleno	1454
16	21,395	3,11	Aromadendreno	1441
17	21,585	1,85	α -Guaieno	1439
18	23,042	3,46	Valenceno	1496
19	23,754	20,30	Germacreno B	1559
20	24,440	0,79	No identificado	
21	25,847	1,22	α -Copaeno	1376
22	26,807	2,86	No identificado	
23	27,643	1,01	No identificado	
% monoterpenos		41,4		
% sesquiterpenos		50,2		
% No identificados		8,41		

El aceite esencial de las flores de *B. nitida* resultó contener 23 compuestos que corresponden al 100 % de la mezcla, de los cuales se identificaron 91,6 % de los mismo según cromatograma A.E *B. nitida* (flores) (ver figura 13 en anexos). Los componentes mayoritarios que se encontraron fueron: Mirceno 22,38% (monoterpeno), Germacreno B 20,30% (sesquiterpeno), *trans*-Cariofileno 15,67% (sesquiterpeno),

Limoneno 5,83% (monoterpeno) y en menor proporción *trans*-Ocimeno 3,82% (monoterpeno), Valenceno 3,46% (sesquiterpeno), Aromadendreno 3,11% (sesquiterpeno), los valores se muestran en la figura 9. Según el tipo de componentes, se puede indicar que los mayoritarios son los sesquiterpenos con 50,2 % y monoterpenos 41,4 % de la muestra.

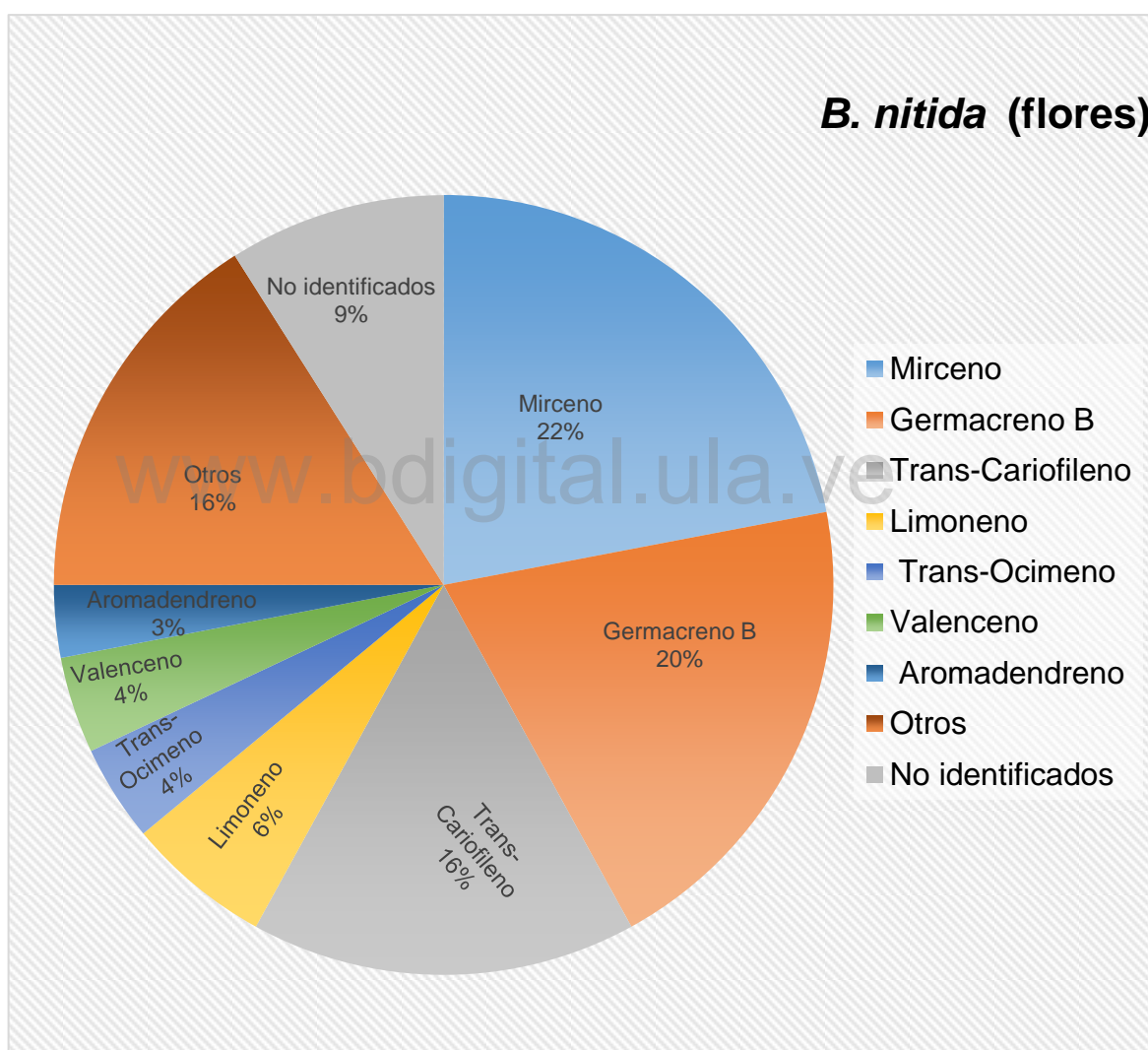


Figura 9. Grafico que representa la composición química del aceite de la especie *B. nitida* (flores).

La Tabla 9 presenta los componentes químicos del aceite esencial de *B. nitida* (tallos) los resultados obtenidos según cromatograma A.E *B. nitida* tallos (ver figura 14 en anexos):

Tabla 9.
Componentes químicos del aceite esencial de los tallos de *B. nitida*

# Pico	Tiempo de retención	% Área	Componente	Índice Kováts (tab)
1	5,150	3,40	α-Pineno	939
2	6,019	3,00	Sabineno	975
3	6,110	4,53	β-Pineno	979
4	6,424	37,13	Mirceno	990
5	6,921	1,29	δ -3-Careno	1008
6	7,417	14,44	Limoneno	1031
7	7,575	1,30	2,2,6-trimetil-ciclohexanona	1064
8	7,897	3,77	β- Ocimeno	1050
9	8,220	1,56	γ -Terpineno	1062
10	11,870	4,32	Terpinen-4-ol	1170
11	17,340	0,93	(+)-2-Careno	1002
12	19,549	3,14	<i>trans</i> -Cariofileno	1419
13	21,370	1,32	Isolongifoleno	1390
14	23,017	0,94	Valenceno	1496
15	23,679	7,46	Germacreno B	1559
16	23,861	0,98	No identificado	
17	24,432	1,72	No identificado	
18	25,855	3,06	No identificado	
19	26,807	4,39	No identificado	
20	27,634	1,33	No identificado	
% monoterpenos		74,37		
% sesquiterpenos		12,86		
% Otros compuestos		1,30		
% No identificados		8,41		

El aceite esencial de los tallos de *B. nitida* resultó contener 20 compuestos que se corresponde al 100 % de la mezcla, de los cuales se identificaron el 88,53 % de los componentes, entre los mayoritarios se encontraron: Mirceno 37,13 % (monoterpeno), Limoneno 14,44% (monoterpeno), Germacreno B 7,46% (sesquiterpeno), β -Pineno 4,53%

(monoterpeno) y en menor proporción Terpinen-4-ol 4,32% (monoterpeno), β - Ocimeno 3,77% (monoterpeno), α -Pineno 3,40% (monoterpeno) (ver Figura 10), se puede decir que la clase mayoritaria son los monoterpenos con 74,37 % mientras que los sesquiterpenos representan el 12,86 % del total de la muestra.

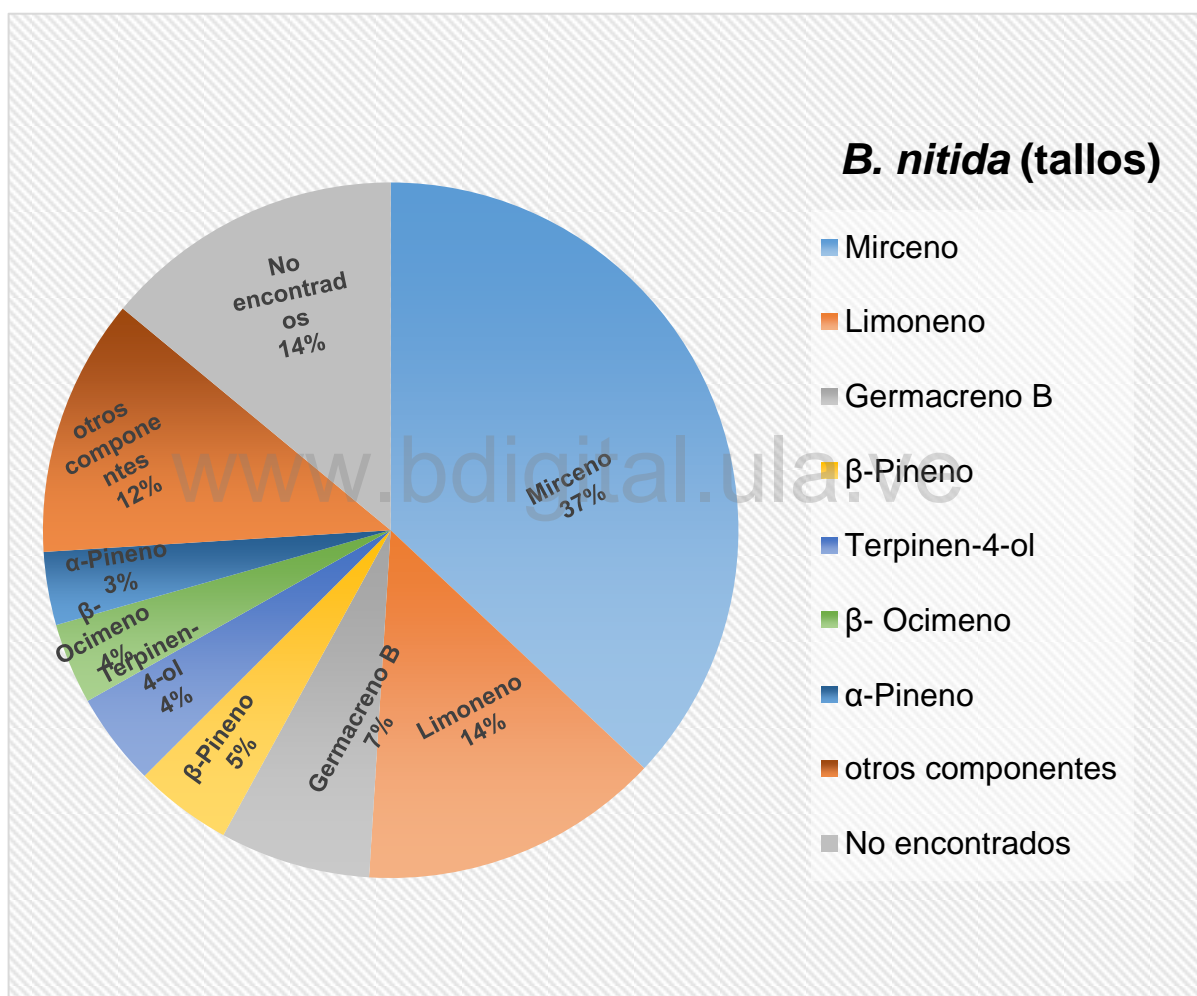


Figura 10. Grafico que representa la composición química del aceite de la especie *B. nitida* (tallos).

Los componentes mayoritarios del aceite esencial de *Baccharis nitida* del aceite de hojas, flores y tallos, (ver figura 11) resultaron tener varias coincidencias de compuestos químicos; vale la pena resaltar que se identificaron alrededor de 15 compuestos para cada parte de la especie estudiada, en promedio de porcentaje entre los compuestos mayoritarios que se encontraron para la especie podemos mencionar; Mirceno (monoterpeno) con (30%), Limoneno (monoterpeno) con (13%), Germacreno B (sesquiterpeno) con (11%), *trans*-Cariofileno (sesquiterpeno) con (7%) y β -pineno (monoterpeno) con (4%), entre estos compuestos mayoritarios vemos que los tipos que más se presentan son el Mirceno y el Limoneno, compuestos que ya han sido identificados en otras especies del mismo género pero no como componentes mayoritarios.

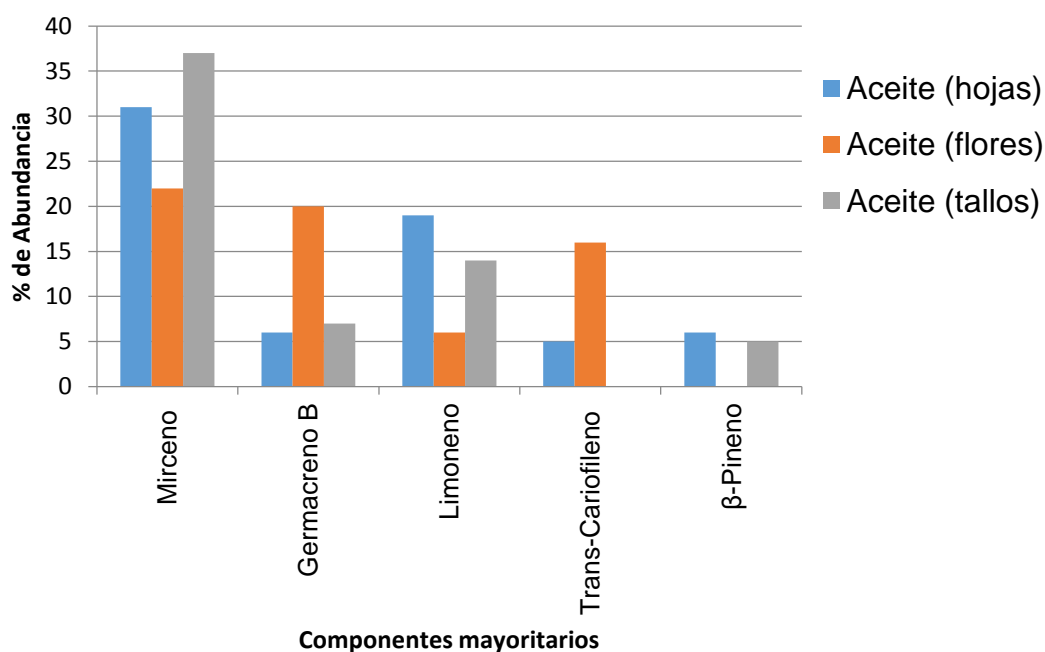


Figura 11. Grafico comparativo de los componentes mayoritarios identificados de los aceites esenciales de la especie *B. nitida*

Resultados para las pruebas de actividad antibacteriana de la especie *Baccharis nitida*.

Los resultados obtenidos del aceite esencial puro de las hojas de la especie estudiada se observan en la tabla 10.

Tabla 10.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de las hojas de *B. nitida*

Bacterias	Halos de inhibición (mm)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	9 mm
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	7 mm
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	---
<i>K. pneumoniae</i> (ATCC 23357)	9 mm
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	10 mm
Control positivo oxitetraciclina 5 mg/ml	21 mm

Puede verificarse en base a los resultados de la evaluación de sensibilidad antibacteriana del aceite esencial de hojas de *B. nitida* que la especie presenta actividad frente a las bacterias grampositivas *S. aureus* y *E. faecalis*, también presenta actividad frente a las bacterias gramnegativas *K. pneumoniae* y *P. aeruginosa*, sin embargo, no presentó actividad frente a la bacteria *E. coli* donde no se obtuvo halo de inhibición. En este sentido se puede decir que, el aceite hojas presenta mayor actividad antibacteriana frente a las bacterias gramnegativas, ya que fue donde se obtuvieron mayores halos de inhibición en comparación con los halos de inhibición de las grampositivas.

Los resultados de la evaluación de sensibilidad antibacteriana del aceite en flores de *B. nitida* indicaron lo siguiente (ver tabla 11):

Tabla 11.
Actividad antibacteriana del aceite esencial de las flores de *B. nitida*

Bacterias	Halos de inhibición (mm)
<i>S. aureus</i> (ATCC 25923)	---
<i>E. faecalis</i> (ATCC 29212)	---
<i>E. coli</i> (ATCC 25922)	---
<i>K. pneumoniae</i> (ATCC 23357)	---
<i>P. aeruginosa</i> (ATCC 27853)	8 mm
Control positivo oxitetraciclina 5 mg/mL	20 mm

Los resultados de la evaluación de sensibilidad antibacteriana del aceite de flores de la especie *B. nitida* mostraron que éste no presenta actividad antibacteriana frente a las cepas de bacterias grampositivas *S. aureus* y *E. faecalis*, tampoco presentó actividad para las cepas de bacterias gramnegativas *K. pneumoniae* y *E. coli*, pero para la cepa *P. aeruginosa* sí se obtuvo halo de inhibición (8 mm). En este sentido se puede decir que, el aceite en flores presenta actividad antibacteriana frente a las bacterias gramnegativas según los resultados obtenidos.

Discusión

El género *Baccharis* ha sido ampliamente estudiado, las investigaciones varían desde el análisis de los extractos de las diversas partes de la planta hasta el estudio de los compuestos volátiles, también de distintas partes de la especie sobre diversas cepas de bacterias o agentes patógenos. En relación a los componentes volátiles presentes en el género *Baccharis* se puede mencionar una gran variedad, muchos de ellos, organizados en la tabla 3. Entre algunos de los componentes se puede mencionar α -tujeno, α -pineno, β -pineno, sabineno, mirceno, limoneno, α -terpineno, γ -terpineno, terpin-4-ol de *B. obovata* Hook (Malizia y cols., 2005; Ortuño, 2019, Ramos y cols., 2020); óxido de cariofileno, viridiflorol, germacreno D, germacreno B, β -cariofileno, espatulenol, δ -3-careno, biciclogermacreno, δ -cadineno, β -elemeno, Globulol, cis-muuro-la-4(14), α -humuleno de *B. trinervis* (Chaverri y Ceccio, 2017); α -bisabolol, limoneno de *B. articulata* (Gianello y Giordano, 1984); espatulenol, biciclogermacreno, viridiflorol de *B. tandilensis* (Prado, Baren, Lira, Bandoni y Orfila, 2003); α -pineno, β -pineno y espatulenol (*B. uncinella*); espatulenol, β -cariofileno, y β -selineno (*B. anomala*); germacreno D-, óxido de cariofileno y espatulenol (*B. dentata*) (Rodríguez, Roa y Palacios, 2016, Torres y cols., 2018), entre muchos otros componentes volátiles.

Entre todos los componentes constituyentes de los aceites del género *Baccharis* los que más se reportan como mayoritarios son α -pineno, el cual se encuentra en especies como *B. obovata* (hojas); *B.*

unicella (flores y hojas); *B. notoserigila* (partes aéreas) entre otras (ver tabla 3); el β -pineno que se encuentra en especies como: *B. obovata* (hojas), *B. trinervis* (hojas), *B. latifolia* (partes aéreas) entre muchas otras; el limoneno en *B. obovata* (hojas), *B. trinervis* (hojas), *B. tandilesis* (flores) entre otras; el espatulenol que se encuentra en *B. trinervis* (hojas), *B. tandilesis* (flores), *B. unicella* (flores) entre otras; se puede mencionar finalmente al β -cariofileno, el cual se encuentra en *B. trinervis* (hojas y flores), *B. tandilesis* (flores) y *B. notoserigila* (partes aéreas) (ver tabla 3).

En relación, a los componentes volátiles de la especie *B. nitida* no se encontró hasta el momento algún estudio publicado que especificara los compuestos presentes en el aceite. Sin embargo, se debe recordar que se obtuvieron como componentes mayoritarios; el Mirceno (monoterpeno) con (30%), Limoneno (monoterpeno) con (13%), Germacreno B (sesquiterpeno) con (11%), *trans*-Cariofileno (sesquiterpeno) con (7%) y β -pineno (monoterpeno) con (4%).

El limoneno es un compuesto mayoritario también identificado en especies *B. spartioides* 28,7% - 56,7% (Van, Di Leo y Bandoni, 2002), *B. darwinii* 47,1 % (Kurdelas, y cols., 2012) y *B. obtusifolia* 28,27% (Rosales, 2012). El β -pineno también ha sido identificado en especies *B. obtusifolia* 8,24% (Rosales, 2012), *B. dracundifolia* 9,5% (Torres y cols., 2018). El Germacreno B en *B. caridifolia* 17,1% (Ramos y cols., 2020), *B. dracundifolia* 8,4% (Torres y cols., 2018, *B. obtusifolia* 6,19% (Rosales, 2012).

El *trans*-Cariofileno y el β - Ocimeno, no reportados en otras especies revisadas hasta el momento, lo cual puede ser indicativo de que son componentes específicos de la especie estudiada. En base a estos compuestos mayoritarios, se puede decir que la especie *B. nitida*, presenta como componentes con mayor porcentaje los de tipo monoterpenos (60%) y luego los sesquiterpenos (40%).

Por otra parte, en relación a los usos y actividades biológicas del género *Baccharis*, los estudios han sido variados y han generado grandes avances debido a su reputación tanto en el uso de la medicina tradicional en América Latina como en el reconocimiento de diversas actividades frente a agentes patógenos. Una de las principales investigaciones se relaciona con los estudios de los aceites esenciales de las diferentes partes de las especies, las cuales han sido estudiadas frente a bacterias grampositivas y gramnegativas obteniéndose actividad antibacteriana en la mayoría.

Tal es el caso del aceite esencial de la especie *B. obtusifolia*, a través de microdilución en caldo (método no usado en esta investigación), que mostró sensibilidad moderada frente a *E. faecalis* (1000 $\mu\text{g/mL}$) y *K. pneumoniae* (1000 $\mu\text{g/mL}$) pero no inhibió el crecimiento de *P. aeruginosa*, *E. coli* y *S. aureus*; además esta especie presentó compuestos como el limoneno, β -pineno y Germacreno B, a los cuales puede deberse su actividad (Rosales, 2012). Otra especie *B. dracundifolia* mostró actividad antibacteriana frente a *P. aeruginosa* (102 $\mu\text{g/mL}$) y *S. aureus* (512 $\mu\text{g/mL}$) la evaluación se hizo *in vitro* y presentó componentes

como limoneno, β -pineno y Germacreno B (Torres y cols., 2018). También la especie *B. caridifolia* presentó actividad contra las bacterias *P. aeruginosa* (512 $\mu\text{g/mL}$) y para *P. aeruginosa* (128 $\mu\text{g/mL}$), la investigación se hizo mediante el método de microdilución en placas de 96 pocillos y esta especie contiene como compuesto mayoritario, el Germacreno B (Ramos y cols., 2020). Los aceites esenciales de las especies mencionadas presentan compuestos similares a la especie *B. nítida*, de allí que se puede decir que la actividad antibacteriana presentada por el aceite esencial de cada parte pudiera ser debida a sus componentes como el limoneno, mirceno, germacreno B y β -pineno.

En el trabajo realizado se evidenció actividad antibacteriana del aceite de hojas de *B. nitida* frente a las bacterias grampositivas *S. aureus* y *E. faecalis* y frente a las bacterias gramnegativas *K. pneumoniae* y *P. aureuginosa*, mientras que el aceite en flores solo obtuvo halos de inhibición frente a la bacteria gramnegativa *P. aeruginosa*. Es importante señalar que la actividad antibacteriana que presenta el género *Baccharis* y en el caso particular la especie *B. nitida* puede deberse a la presencia de algunos componentes que han mostrado sensibilidad ante diversos agentes patógenos, pero es complejo comparar los resultados obtenidos con los publicados en otros estudios, la divergencia de los valores entre los diversos estudios puede explicarse por la diversidad de las técnicas usadas, la variación de la composición química de los aceites de acuerdo a la especie o la procedencia geográfica.

Finalmente, vale la pena mencionar que si bien se han realizado varias investigaciones acerca del aceite esencial en diversas especies del género, no se ha encontrado hasta el momento investigaciones acerca del aceite en *Baccharis nitida*, ésta investigación puede ser pionera en el estudio del aceite de la especie, además cabe resaltar que los resultados obtenidos fueron positivos, en relación a que se obtuvo actividad frente a bacterias que día a día se hacen más resistentes a fármacos de uso común, de ahí la importancia de seguir desarrollando más investigaciones en relación a la especie.

www.bdigital.ula.ve

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

En el aceite esencial en hojas de la especie *B. nitida* se encontraron 18 compuestos, entre los componentes mayoritarios que se encontraron están: Mirceno (31,15 %), Limoneno (19,45%), α -pineno (7,07%), Sabineno (6,35%), Germacreno B (6,11%), β -pineno (5,82%), *trans*-Cariofileno (5,10%) y β -ocimeno (4,54%). Los monoterpenos fueron los que se encontraron en mayor porcentaje con 79,6 % del total de la muestra.

En el aceite esencial de flores de la especie *B. nitida* se encontraron 23 compuestos químicos y entre los componentes mayoritarios se encontraron: Mirceno (22,38%), Germacreno B (20,30%), *trans*-Cariofileno (15,67%), Limoneno (5,83%) y en menor proporción *trans*-Ocimeno (3,82%), Valenceno (3,46%), Aromadendreno (3,11%). Siendo los sesquiterpenos los más abundantes con 50,2 % el total de la muestra.

En el aceite esencial de los tallos de la especie *B. nitida* se encontraron 20 compuestos volátiles, los mayoritarios fueron: Mirceno (37,13 %), Limoneno (14,44%), Germacreno B (7,46%), β -Pineno (4,53%) y en menor proporción Terpinen-4-ol (4,32%), β -Ocimeno (3,77%), α -Pineno (3,40%). Los monoterpenos fueron los más abundantes con 74,37 % del total de la muestra.

En relación a la actividad antibacteriana, el aceite esencial puro de hojas de la especie *Baccharis nitida* presentó actividad frente a la cepas de bacterias grampositivas *S. aureus* (9 mm) y *E. faecalis* (7 mm), mientras que para las cepas de bacterias gramnegativas solo presentó halos de inhibición frente a las bacterias *P. aeruginosa* (10 mm) y *K. pneumoniae* (9 mm). Por otro lado, el aceite de flores de la especie solamente inhibió la cepa *P. aeruginosa* (8 mm), no se obtuvo halo de inhibición en ninguna de las otras bacterias estudiadas.

Recomendaciones

En relación a que el aceite esencial de la especie *Baccharis nitida* dio resultados favorables contra las cepas de ensayo de la investigación, se recomienda que se siga evaluando con otras cepas bacterianas multiresistentes nosocomiales, para determinar el potencial del aceite con otros agentes patógenos. Se hace extensiva la recomendación para que sea evaluada la actividad antifúngica y antioxidante del aceite esencial de la especie *B. nitida*.

Por otro lado, considerando el potencial obtenido en el aceite esencial se recomienda que se lleve a cabo el estudio de la actividad antibacteriana de los extractos de la especie y valorar así su actividad antibacteriana en comparación con el aceite obtenido.

BIBLIOHEMEROGRAFÍA

- Abad, M. y Bermejo, P. 2007. *Baccharis* (Compositae): a review update. *Arkivoc.* 7, pp. 76-96.
- Akrout, A., Chemli, R., Chreif, I. y Hammami, M. (2001). Analysis of the essential oil of *Artemisia campestris* L. *Flavour and fragrance Journal.* 16(5), pp. 337-339. doi.org/10.1002/ffj.1006
- Albornoz, A., (1997). *Medicina tradicional herbaria*. Caracas, Venezuela: Instituto Farmacoterapéutico.
- Albornoz, A. (1980). *Productos naturales sustancias y drogas extraídas de las plantas*. Caracas, Venezuela: Publicaciones de la Universidad Central de Venezuela.
- Anon, (2003). Determination of minimum inhibitory concentration (MICs) of antibacterial agents by broth dilution. *Clinical Microbiology and Infection.* 9, pp. s/p.
- Arias, F. (2006). *El proyecto de investigación, introducción a la metodología científica*. Caracas, Venezuela: Editorial Espíteme.
- Aristeguieta, L. (1964). *Compositae*. Caracas, Venezuela: Lasser T.
- Ariza, O. (2008). Estudio de la composición química de la fragancia de las flores de posoqueria latifolia, utilizando diferentes técnicas de extracción. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias Escuela de Química Bucaramanga.
- Asensio, J. (2000). *Guía de antimicrobianos y control de infecciones*. Madrid, España: Editorial Díaz de Santos.

- Ávalos, A. y Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología)*. 2(3), pp. 119-145.
- Badillo, V. (1996). Los Géneros de las Compositae (Asteraceae) de Venezuela Clave Artificial para su Determinación. *Ernstia*. 6(2), pp. 51-105.
- Badillo, V. (2001). Lista Actualizada de las Especies de la Familia Compuestas (Asteraceae) de Venezuela. *Ernstia*. 11(3), pp.3-4
- Balestrini, M. (2006). *Como se elabora el proyecto de investigación*. Caracas, Venezuela: consultores asociados.
- Barry, A., Amsterdam, D., Coyle, M., Gerlach, E., y Thornsberry, C. (1979). Simple Inoculum Standardizing System for Antimicrobial Disk Susceptibility Test. *Clin. Microbiology*. 10(2), pp. 910.
- Barrios, A. (1988). *Bacteriología y Virología Básica*. Mérida, Venezuela: Editorial venezolana.
- Bata, M., Debiao, L., y Saikia, A. (2006). Antibacterial activity of the crude extract of chinese Green Tea. *African Journal of Biotechnology*. 7(19), pp. 15-71.
- Bruneton, J. (2001). *Fitoquímica. Plantas Medicinales*. Zaragoza, España: Editorial Acriba S.A.
- Cabrera, C., Gómez, R. y Zúñiga, A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*. 38(2), pp. 149-158.

- Calvo, J. y Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*. 27(1), pp. 44-52.
- Canani, F., Lemos, M., Barreto, J., Comunello, E., Maistro, E., Bastos, J. y De Andrade, S. (2014). Nerolidol, an Antiulcer Constituent from the Essential Oil of *Baccharis dracunculifolia* DC (Asteraceae). *Naturforsch.* 62(7-8), pp. 537-42.
- Carballo, M., Cortada, C. y Gadano, A. (2005). Riesgos y beneficios en el consumo de plantas medicinales. *Theoria*, 14(2), pp. 95-108.
- Chaverri, C. y Ceccio, J. (2017). Constituyentes de los aceites esenciales *Baccharis trinervis* (Asteraceae) de Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*. 65(4), pp. 1307-1321.
- Cobos, M., Justo, L., Rodríguez, M., Demo, M., Faillaci, S. y Zygadlo, J. (2001). Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil of *Baccharis notoserghila*. *Planta med.* 67(1), pp. 84-86.
- Comegna, M., Guzmán, M., Carmona, O. y Molina, M. (2000). Resistencia bacteriana a los antimicrobianos en Venezuela-Nuevos hallazgos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 20(1), pp. 88-90.
- Cordiés, L., Machado, L. y Hamilton, M. (1998). Principios generales de la terapéutica antimicrobiana. *Acta med.* 8(1), pp. 13-27.
- Dabrio, M. (1973). *Cromatografía de Gases*. España: Editorial Alambra.
- Delgado, A. y Cuca, S. (2007). Composición química del aceite esencial de *Piper hispidum*. *Revista Productos Naturales*. 1(1), pp. 5-8.

- Del Vito, L. y Petenatti, E. (2009). Asteráceas de importancia económica y ambiental. Primera parte. Sinopsis morfológica y taxonómica, importancia ecológica y plantas de interés industrial. *Multequina*, 18, pp. 87- 115.
- Domingo, D. y López, M. (2003). Plantas con acción antimicrobiana. *Revista Española de Quimioterapia*. 16(4), pp. 385-393.
- Embid, A. (2017). Resistencia de las Bacterias a los Antibióticos. *Revista De Medicinas Complementarias. Medicina Holística*, 1(53), pp. 45-59.
- Freire, S., Urtubey, E. y Giuliano, D. (2007). Epidermal characters of *Baccharis* (Asteraceae) species used in traditional medicine. *Caldasia*. 29(1), pp. 23-38.
- Frizzo, C., Serafini, L., Dellacass, E., Lorenzo, D. y Moyna, P. (2001) Essential oil of *Baccharis uncinella* DC. from Southern Brazil. *Flavour and Fragrance Journal*. 16(4), pp. 286-288.
- Gaceta Médica de México. (2015). *La resistencia a los antibióticos: un grave problema global*. Recuperado de <https://www.medigraphic.com/pdfs/gaceta/gm-2015/gm155r.pdf>
- García, V. (2002). *Introducción a la Microbiología*. Barcelona, España: Editorial universidad estatal a distancia.
- Gené, R., Cartaña, C., Adzet, T., Marin, E., Parella, T., y Cañigüeral, S. (1996). Anti-Inflammatory and Analgesic Activity of *Baccharis trimera*: Identification of its Active Constituents. *Planta Médica*. 62(2), pp. 232-235.

- Gianello, J. y Giordano, O. (1984). Examen Químico en seis especies del Género *Baccharis*. *Revista Latinoamericana de Química*. 15(2), pp. 84-86.
- Gil, O., Mejías, R., Carmona, J., Mejías, R. y Rodríguez, M. (1996). Estudio Etnobotánico de Algunas Plantas Medicinales Expendidas en los Herbolarios de Mérida, Ejido y Tabay (Estado Mérida – Venezuela). *Revista de la Facultad de Farmacia*. 45(1), pp. 69-76.
- Girault, L. (1987). Kallawayá. Curanderos itinerantes de los Andes. Investigación sobre prácticas medicinales y mágicas. La paz, Bolivia: Servicio Gráfico Quipus.
- Gonzaga, L., Costa, I. y Pizzolatti M. (2005). Género *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, económicos e biológicos. *Quim. Nova*. 28(1), pp. 85-94.
- Giuliano, D. (2003). Clasificación infragenérica de las especies Argentinas de *Baccharis* (Asteraceae, Astereae). *Darwiniana*. 39, pp. 131 -154.
- Gutiérrez, M. y Droguet, M. (2002). La Cromatografía de Gases y la Espectrometría de Masas: Identificación de compuestos causantes de mal olor. *Boletín Intexter* (U.P.C.) (122), pp. 35-41.
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). *Metodología de la Investigación*. Distrito Federal, México: Editorial McGrawHill.
- Hurtado, J. (2000). *La Investigación holística*. Recuperado <https://ayudacontextos.files.wordpress.com/2018/04/jacqueline-hurtado-de-barrera-metodologia-de-investigacion-holistica.pdf>

- Jassim, S. y Naji, M. (2003). Novel antiviral agents: a medicinal plant perspective. *Revista de microbiología aplicada*. 95(3), pp. 412-427.
- Kahriman, N., Tosun, G., Terzioglu, S., Karaoglu, S. y Yayh, N. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils from the Flower, Leaf, and Stem of *Senecio pandurifolius*. *Records of Natural Products*. 5(2), pp. 82-91.
- Koneman, E., Procop, G., Scheckenberger, P. y Woods, G. (2008). *Diagnóstico Microbiológico*. Argentina: Editorial Médica Panamericana S.A.
- Kordali, S., Kotan, R., Mavi, A., Cakir, A., Ala, A., y Yildirim, A. (2005). Determination of the chemical composition and antioxidant activity of the essential oil of *Artemisia draunculus* and of the *Artemisia absinthium*, *A. draunculus*, *A. santonicum* and *A. spicigera* essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*. 53(24), pp. 3943-3948. doi: 10.1021/jf0516538.
- Kurdelas, R., López, S., Lima, B., Egly, G., Zygadlo, J., Zacchino, S., López, M., Tapia, A. y Freile, M. (2012). Chemical composition, anti-insect and antimicrobial activity of *Baccharis darwinii* essential from Argentina Patagonia. *Industrial Crops and Products*. 40, pp. 261-267.
- Malizia, R., Cardell, D., Molli, J., González, S., Guerra, P. y Grau, R. (2005). Volatile constituents of leaf oils from the genus *Baccharis*. Part I. *B. racemosa* (Ruiz et. Pav.) De Candolle and *B. linearis* (Ruiz et. Pav.) Persoon species from Argentina. *Journal of Essential Oil Research*. 17, pp. 103-106.

- Mantilla, J. y Sanabria, A. (1985). Actividad Antibacteriana de Plantas Superiores Colombianas. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. 4(2), pp. 25-33.
- Marín, O., López, C., Pérez, J. e Isaza, G. (2006). Actividad antifúngica de los extractos acuosos de *Baccharis trinervis*, *Baccharis latifolia* y *Solanum dolichosepalum*. *Revista Biosalud*. 2(5), pp. 51-9.
- Marcano, D. y Hasegawa, M. (1991). *Fitoquímica Orgánica*. Caracas, Venezuela: Universidad central de Venezuela.
- Martínez, V. (2006). *Importancia de las Plantas Medicinales*. Recuperado de <https://instituciones.sld.cu/fcmdoct/files/2019/10/Importancia-de-las-plantas-medicinales.pdf>
- Martínez, A. (2001). *Aceites*. Medellín: Facultad de Química y Farmacéutica de la Universidad de Antioquia. Recuperado de http://www.med-informatica.com/OBSERVAMED/Descripciones/Aceites EsencialesUdeA_esencias2001b.pdf
- Mendoza, A. y García, C. (2009). *Medicamentos: hablando de calidad*. Recuperado de http://abiaids.org.br/_img/media/Medicamentos%20espanhol.pdf
- Mesa, A., Montiel, J., Martínez, C., Zapata, B., Pino, N. y Bueno, J. (2007). Actividad *in vitro* anticandida y anti-aspergillus de aceites esenciales de plantas de la familia Piperaceae. *Scientia et Technica*. 13(33), pp. 247-249.
- Mintegiaga, M. (2013). Estudio de la evolución *Baccharis* sp (Asteraceae) en situaciones ambientales definidas mediante la expresión de sus metabolitos volátiles [Mensaje en un blog]. Recuperado de

<http://manuelminteguiaga.blogspot.com/2014/07/estudio-de-la-evolucion-de-baccharissp.html>

Molares, S., González, S., Ladio, A. y Castro, M. (2009). Etnobotánica anatomía y caracterización físico-química del aceite esencial de *Baccharis obovata*. *Acta botánica brasílica*. 23(2), pp. 578-589.

Murray, P., Rosenthal, K. y Pfaller, M. (2009). *Microbiología Médica*. Barcelona, España: Elsevier Mosby.

National Committee for Clinical Laboratory. (1997). Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. *National Committee for Clinical Laboratory standards*. Villanova. 17(1) s/p.

Ochoa, K., Paredes, L. Bejarano, D y Silva, R. (2012). Extracción, caracterización y evaluación de la actividad antibacteriana del aceite esencial de *Senecio graveolens* Wedd (Wiskataya). *Scientia Agropecuaria*. 3, pp. 291-302.

Oliveira, L., Ehringhausm, C. y Yoskio, P. (2004). Genetic diversity of *Pimenta longa* genotypes (Piper spp., Piperaceae) of the Embrapa Acre germplasm collection. *Genetics & Molecular Biology*. 27(1), pp. 74-82.

Organización Mundial de la Salud (2001). *Estrategia Mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67197>

Ortuño, W. (2019). “Determinación de la actividad antibacteriana de los aceites esenciales de Chilca (*Baccharis latifolia*) y cilantro (*Coriandrum sativum*) para el control de la *Xanthomona* sp., en condiciones *in vitro*” (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.

Padrón, M. (2010). *Componentes químicos con actividad bactericida, fungicida y citotóxica de plantas de la familia Myrtaceae y Lauraceae* (Tesis doctorado). Universidad Autónoma de Nuevo León, España.

Pascual, M. y Calderón, V. (2000). *Microbiología Alimentaria*. España: Ediciones Díaz de Santos S. A.

Picazo, J. (2000). *Procedimientos en Microbiología Clínica. Métodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos*. Recuperado de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimiento-smicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia11.pdf>

Prada, J. (2015). *Análisis Metabolómico de la especie Baccharis latifolia (Asteraceae) en la Sabana de Bogotá* (tesis de pregrado). Universidad Militar Nueva Granada, Bogotá, Colombia.

Prado, H., Baren, C., Di Leo, P., Bandoni, A. y Orfila, E. (2003). El aceite esencial de *Baccharis tandilensis* Speg. Asteraceae. *Dominguezia*. 19(1), pp. 20-24.

Prescott, L., Harley, J. y Klein, D. (1999). *Microbiología*. Caracas, Venezuela: Mc Graw-Hill-Interamericana.

Quer, P. (1962). *Plantas medicinales*. España: Editorial Sabor S: A.

Ramos, P., Justino, A., Rodríguez, C., Feitosa, D., Esmeraldo, J., De Araújo, J., Costa, M., Silva, R., Da Silva, L., D Amaral, W., Deschamps, C., Tintino, S., Ribeiro, J. y Melo, H. (2020). Caracterización y actividad antibacteriana del aceite obtenido de las hojas de *Baccharis caridifolia* DC frente a cepas multiresistentess.

Patogenia microbiana. Recuperado de <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/41297/2/Freitas%20P%20Ramos%20Characterization...pdf>

Ray, B. y Bhunia, A. (2010). *Fundamentos de la Microbiología de los Alimentos*. México: editorial Mc Graw Hill.

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 Pavón) Pers. *Revista de la Facultad de Farmacia*. 42, pp. 43-46.

Ramírez, A., García, E., Longa, A., Sánchez, K., Nieves, M., Velazco, J., Araque, M. y Mosqueda, N. (2006). *Manual Práctico de Bacteriología General*. Mérida, Venezuela: Editorial venezolana, C. A.

Ríos, M., Estrada, S., Flores, V. y Aguilar, M. (2013). Chemical Constituents from *Flourensia resinosa* S.F. Blake (Asteraceae). *Biochemical Systematics and Ecology*. 51, pp. 240-242.

Rodríguez, O., Roa, V. y Palacios, E. (2016). Actividad antibacteriana y antioxidante de *Baccharis revoluta* Kunth. *Revista Nova*. 12(25), pp. 57-65.

Romero, R. (2007). *Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitológicas*. Distrito Federal, México: Editorial medica Panamericana.

Rosado, J. y Moreno, M. (2010). Farmacopea guajira: el uso de las plantas medicinales xerofíticas por la etnia wayuu. *Revista CENIC, Ciencias Biológicas*. 41(Especial), pp. 1-10.

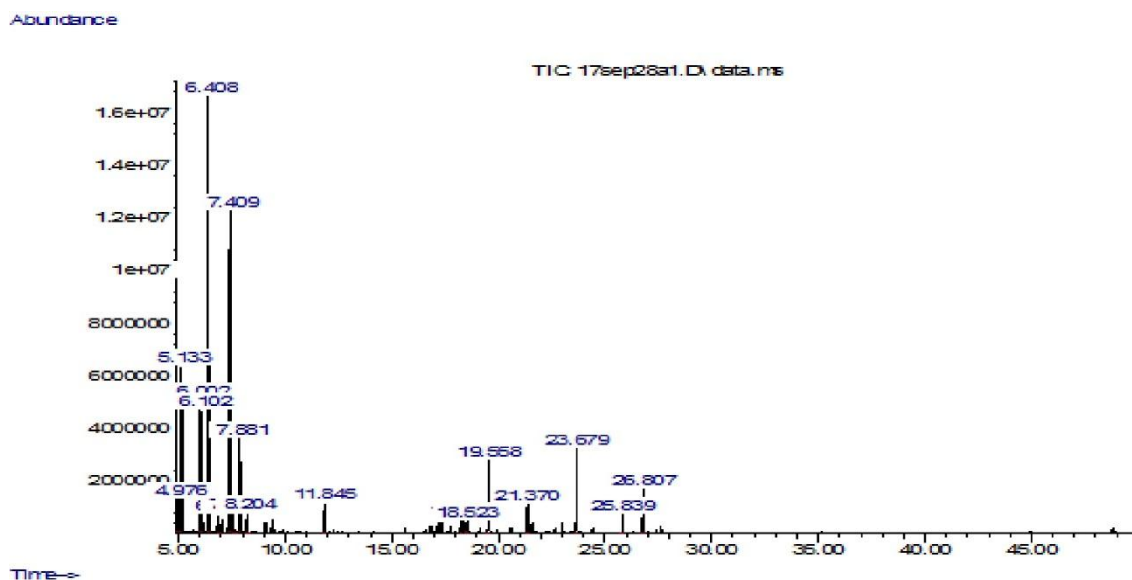
- Rosales, J. (2012). "Determinación de la composición química, propiedades físicas y actividad biológica del aceite esencial de *Baccharis obtusifolia* Kunth (Asteraceae) de la provincia de Loja" (tesis de pregrado). Universidad Técnica Particular de Loja, Loja, Ecuador.
- Silva, E. y Romero, A. (2019). Chemical profile of the volatiles of *Baccharis salicifolia* (Asteraceae) and interaction with *Macrodactylus nigripes* (Coleoptera: Melolonthidae). *Acta agronómica*, 68(3), pp. 222-227. Doi: <https://doi.org/10.15446/acag.v68n3.71063>
- Sitges, A., Peña, C., Baldó, X., Sancho, J., Turégano, Z. y Bueno, J. (2006). *Guía Clínica de Infecciones Quirúrgicas*. España: Aran Ediciones.
- Suzuki, E., Caneschi, C., Costa, R., Fernández, M. y Barbosa, N. (2016). Actividad antimicrobiana del aceite esencial *Baccharis trimera* (Less.) DC. (carqueja-amarga). *Revista cubana de plantas medicinales*, 21(3), pp. 346-358.
- Stevens, W., Ulloa, C., Pool, A. y Montiel, O. (2001). *Flora de Nicaragua*. Nicaragua: editorial Missouri Botanical Garden Press.
- Storch, G. (1968). *Fundamentos de la Cromatografía de Gases*. Madrid, España: Editorial Alhambra S.A.
- Tapia, J. (2010). La familia Asteraceae. *Herbario CICY*. Recuperado de https://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Desde_Herbario/2010/2010-12-16-Tapia-Asteraceae.pdf

- Torres, G., Pereira, J., Fernández, C., Santiago, I., Pereira, A., Sampaio, T., Melo, H., Da Silva, J., Do Amaral, W. y Deschamps, C. (2018). *Caracterización fitoquímica del aceite esencial de Baccharis dracunculifolia DC (Asteraceae) y evaluación de la actividad antibacteriana*. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.052>
- Van, C., Di Leo, p., Bandoni, A. (2002). Composition of essential oil of pichana [*Bacchais spartioides* (Hook. et Am.) Remy (compositae)] from differen populations of the Patagonia, Argentina. *Journal Essential oil Research*. 14, pp. 183-186.
- Valarezo, E., Rosillo. M., Cartuche, L., Malagon, O., Meneses, M. y Morocho. V. (2013). Composición química, actividad antifúngica y antibacteriana del aceite esencial de *Baccharis latifolia* (Ruiz & Pav.) Pers. (Asteraceae) de Loja, Ecuador. *Revista de investigación de aceites esenciales*. 24(3), pp. 233-238.
- Verdi, G., Brighente, C. y Pizzolatti, G. (2005). Género *Baccharis* (Asteraceae): aspectos químicos, económicos e biológicos. *Nova*. 28(1), pp. 85-94.
- Vivot, E., Sánchez, C., Cacik, F. y Sequin. C. (2009). Tamizaje de la actividad antifúngica de extractos de especies de la flora de Entre Ríos. *Revista Cubana de Farmacia*. 43(4), pp. 74-84.
- Wayne, P. (1997). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) Approved Standard M2-A6. *Clinical Laboratory Standards*. 35(1), pp. 20-73.
- Zunino, M., Novillo, M., Maestri, D. y Zygodlo, J. (1998). Composition of the essential oil of *Baccharis crispa* Spreng and *Baccharis salicifolia*

Pers. grown in Córdoba (Argentina). *Flavour and Fragrance Journal*.
12(6), pp. 405-407.

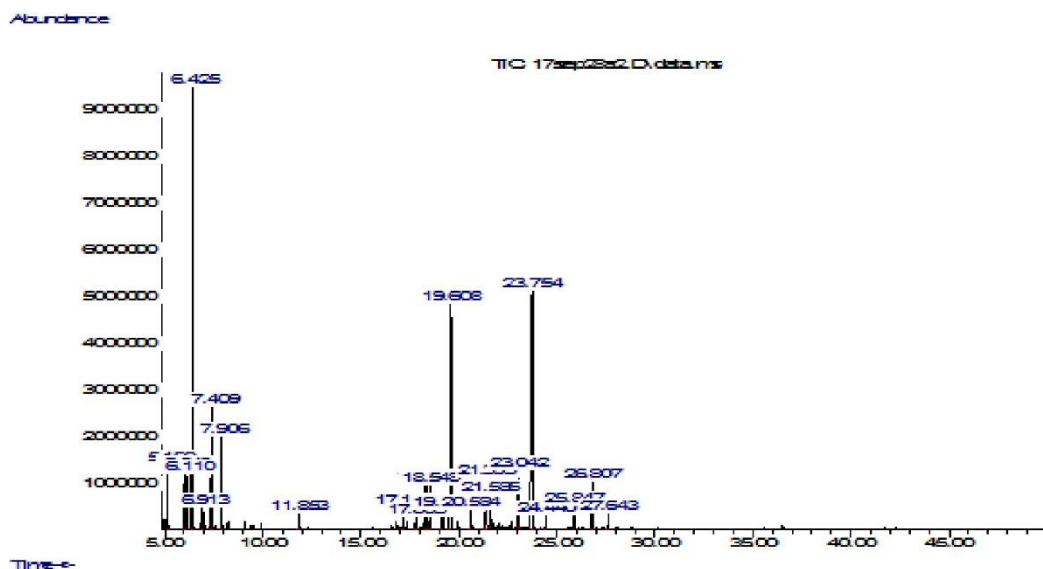
www.bdigital.ula.ve

ANEXOS

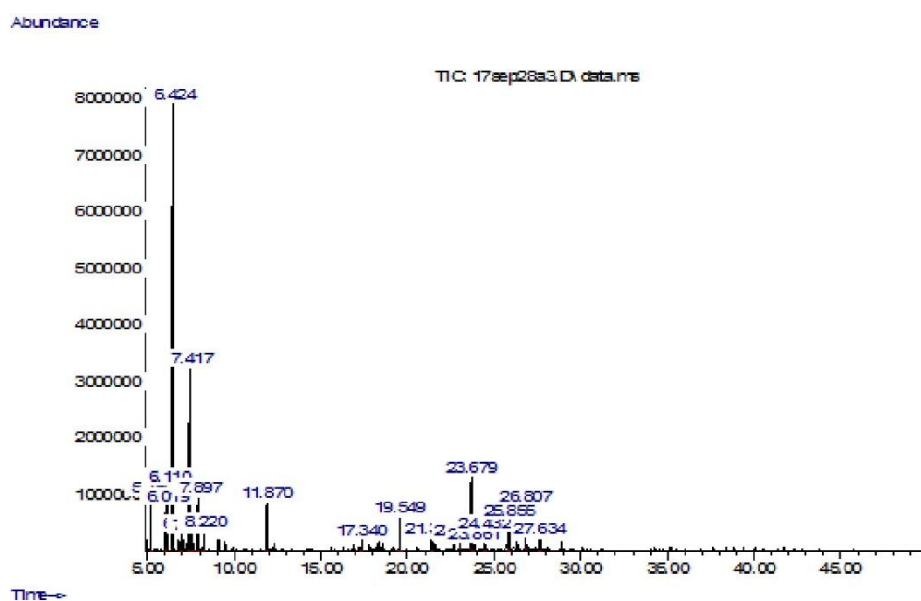


Anexo 1. Cromatograma general del aceite esencial de las hojas de *B. nitida*

www.bdigital.ula.ve



Anexo 2. Cromatograma general del aceite esencial de las flores de *B. nitida*.



Anexo 3. Cromatograma general del aceite esencial de las tallos de *B. nitida*

www.bdigital.ula.ve



Anexo 4. Zona del páramo Merideño donde se recolecto la muestra *B. nitida*



Anexo 5. Recolección de la muestra *B. nitida*

www.bdigital.ula.ve



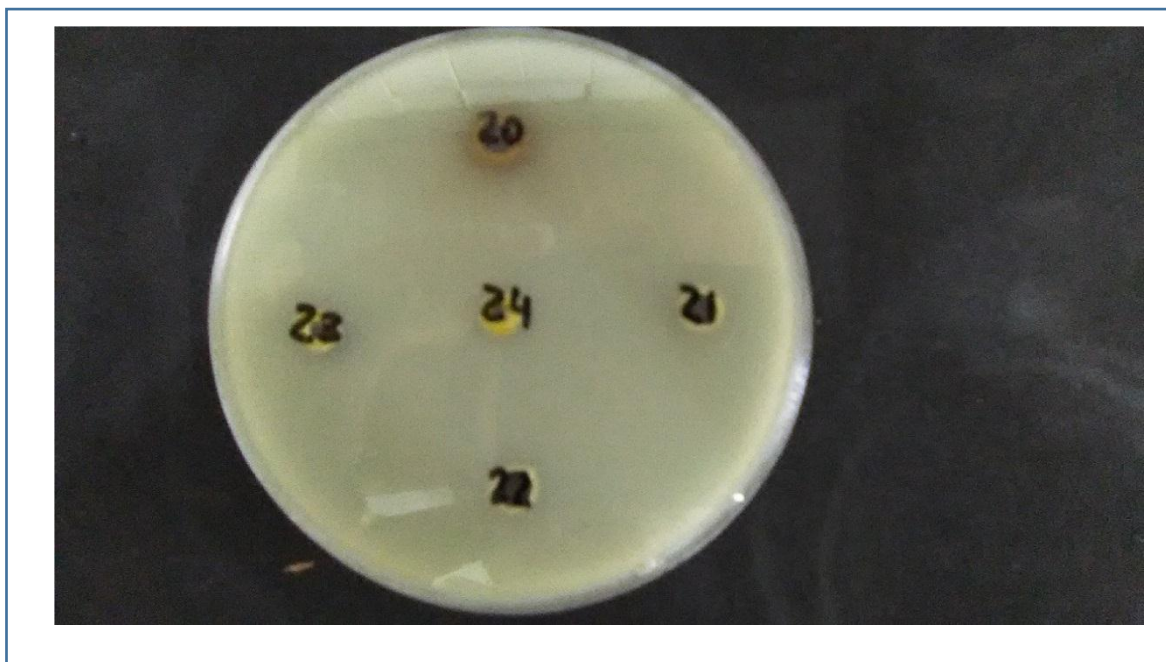
Anexo 6. Especie *B. nitida*



Anexo 7. Proceso de laboratorio para la obtención del aceite en la especie *B. nitida*

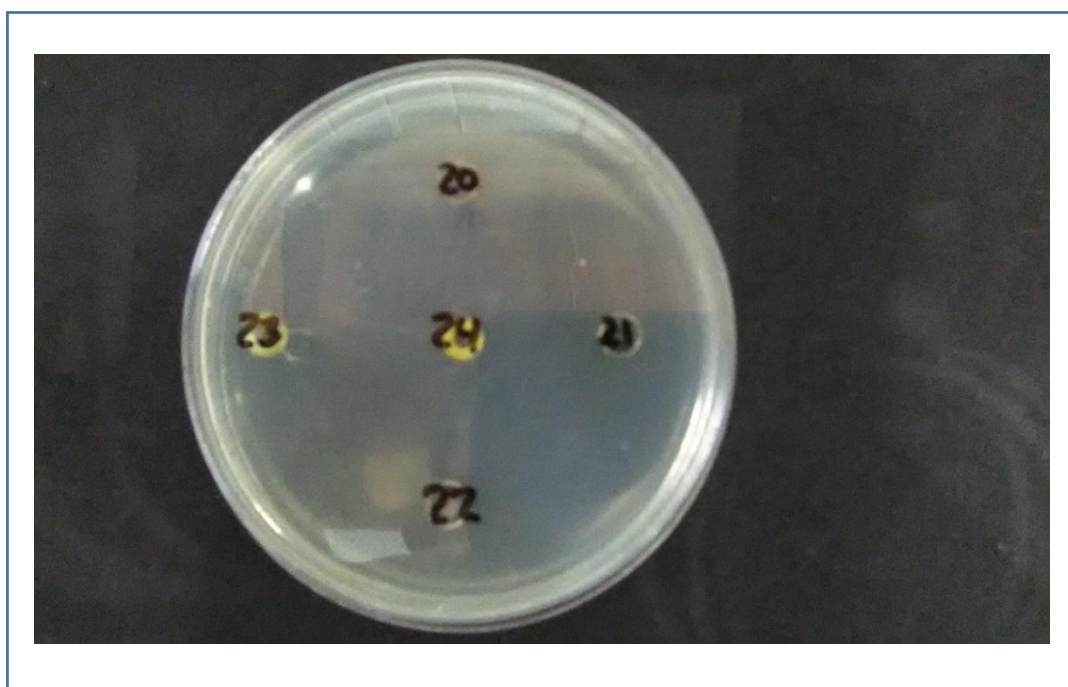


Anexo 8. Proceso de extracción del aceite en la especie *B. nitida* (hidrodestilación)

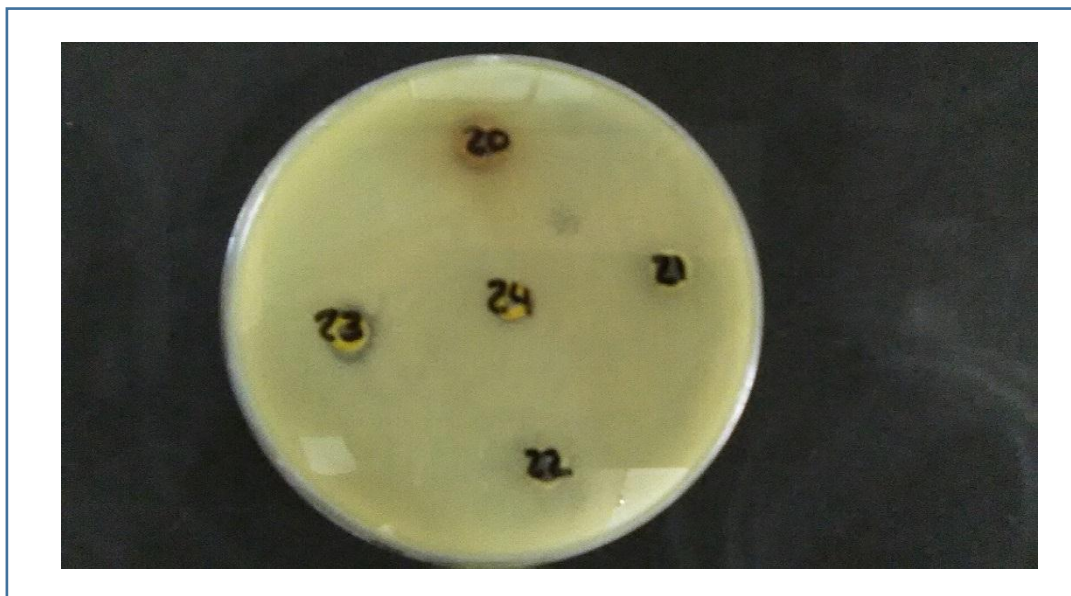


Anexo 9. Actividad antibacteriana frente a *E. faecalis* (n^o 23 aceite de hojas y n^o 24 aceite de flores).

www.bdigital.ula.ve

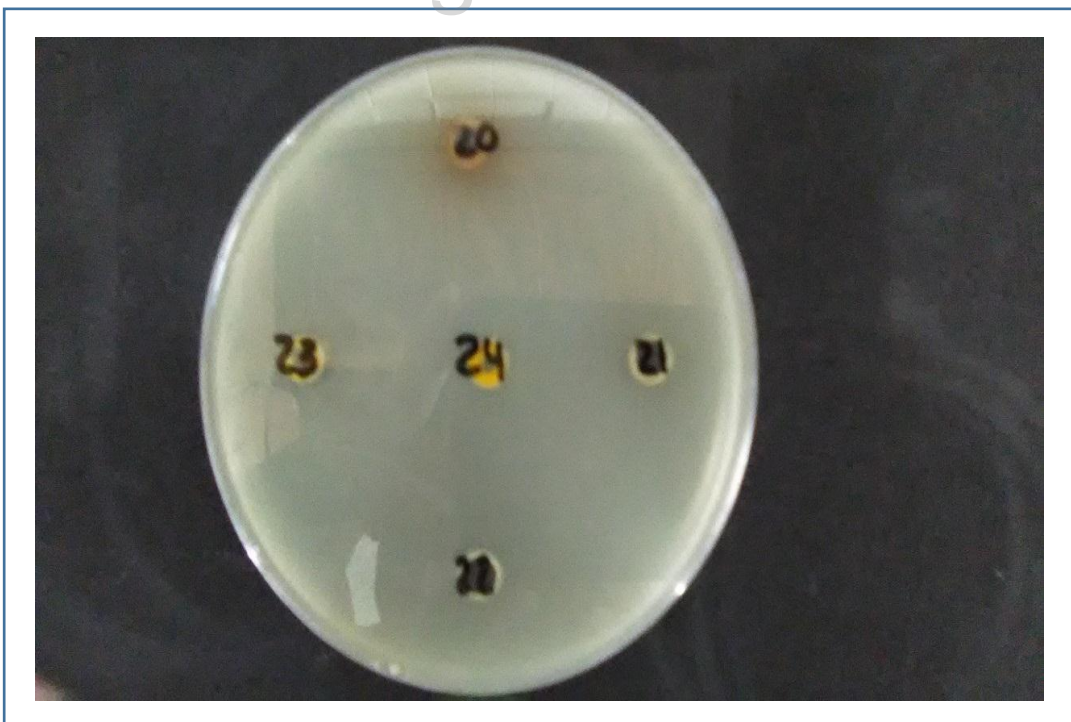


Anexo 10. Actividad antibacteriana frente a *E. coli*. (n^o 23 aceite de hojas y n^o 24 aceite de flores).

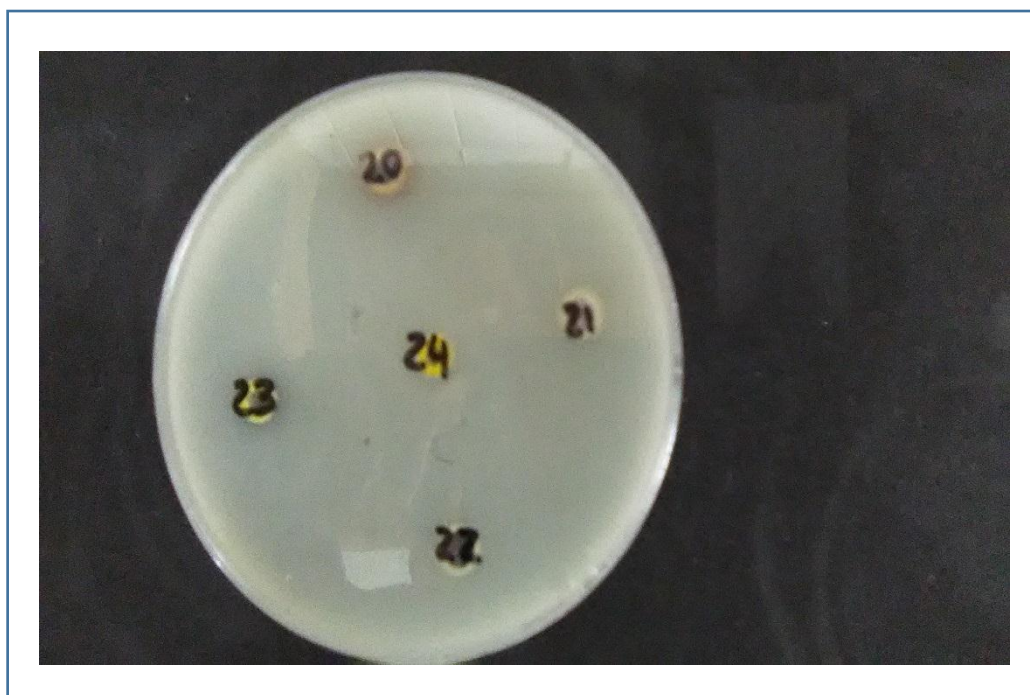


Anexo 11. Actividad antibacteriana frente a *P. aeruginosa* (n^o 23 aceite de hojas y n^o 24 aceite de flores).

www.bdigital.ula.ve



Anexo 12. Actividad antibacteriana frente a *K. pneumoniae* (n^o 23 aceite de hojas y n^o 24 aceite de flores).



Anexo 13. Actividad antibacteriana frente a *S. aureus* (n^o 23 aceite de hojas y n^o 24 aceite de flores).

www.bdigital.ula.ve