



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

EFFECTO INHIBITORIO DEL EXTRACTO DE *Quercus obtusata*
Humboldt & Bonpland SOBRE ALGUNOS PATÓGENOS Y SU
TOXICIDAD

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE BIÓLOGO
P R E S E N T A
ZAMBRANO CRUZ JONATHAN ADRIÁN

DIRECTORA DE TESIS
M. EN C. MARÍA DE JESÚS SÁNCHEZ COLÍN

LABORATORIO DE BIOLOGÍA DE SUELOS



MÉXICO D.F.

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

“Cuando vayan mal las cosas como a veces suelen ir, cuando mires un camino y no sepas a donde ir, cuando mires hacia el frente y un muro se pose frente a ti, descansar a caso debes pero nunca desistir”.

Le agradezco a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por haberme permitido conocer el bello y maravilloso mundo de la Biología, agradezco a todos los profesores de la carrera por los conocimientos que me brindaron a lo largo de mi vida académica, agradezco al jurado conformado por el M en C. Manuel Rico Bernal, a la M. en C. Bárbara Susana Luna, al Biólogo Rubén Zulbarán, a la Dra. Hortensia Rosas Acevedo y sobre todo a la M. en C. Maria de Jesús Sánchez Colín, por su tiempo y conocimientos que me brindaron en el enriquecimiento de la mejora de mi tesis.



Agradezco a mis familiares y amigos, en especial a mis padres Aída Araceli Cruz Luna y Francisco Zambrano Escoto, por el apoyo y consejos que me brindaron durante mi vida académica. Muchísimas gracias por que simplemente sin ustedes no soy nada, gracias por todo, pero sobre todo gracias por ser mis padres.

Agradezco a mi abuelita Rosa que aunque ya no este conmigo se que desde el cielo ella me apoyo para que terminara mi carrera.

Agradezco a mis hermanos Montserrat y Rene a mi cuñada Cristina y a ese hermoso ser que Dios nos mando mi sobrina Alejandra por aguantar conmigo todas esas noches con la luz prendida.

Agradezco a mis tías Virginia, Lourdes y Alicia, y tíos Paco, Humberto y José, a mi abuelo Luís y mis primos Jorge, Andrés, Humberto, Luís, Mauricio, Gabriela, Alejandro, Diana, Axel, por estar siempre conmigo.

Agradezco a mis mejores amigos Fidencio “Richie”, José “El enano”, David “Deivid”, Edgar “El León”, Martha y Abigail, por estar conmigo en las buenas y en las malas pero sobre todo por ofrecerme su amistad.

Y en especial agradezco al amor de mi vida Teresa la niña que me brindo su tiempo y comprensión y al nuevo ser que Dios nos enviara mi bebe que aun no la conozco pero se que querré mas que a mi vida.

En fin agradezco a todos aquellos que estuvieron conmigo, que me brindaron su tiempo y cariño, esas son cosas que jamás se olvidan y que quedan grabadas toda la vida, Muchísimas gracias...



TEMA	PÁGINA
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. JUSTIFICACIÓN.....	5
IV. MARCO TEÓRICO.....	6
4. 1 Plantas medicinales.....	6
4. 2 Historia de las Plantas Medicinales.....	6
4.3 Las plantas medicinales en el México prehispánico.....	7
4.4 Ventajas del uso de las plantas medicinales.....	8
4.5 Desventajas del uso de las plantas medicinales.....	9
4. 6 Propiedades y efectos de las plantas medicinales.....	9
4. 7 Principios activos o metabolitos secundarios de las plantas medicinales.....	11
4. 8 Factores Relacionados con la Producción de los Principios Activos.....	17
4. 9 Obtención y manejo de las plantas medicinales.....	19
4. 10 Principales métodos extractivos del principio activo.....	21
4. 11 Métodos de evaluación de los componentes químicos de los principios activos.....	22
4. 12 Parámetros de actividad antimicrobiana.....	24
4. 13 Efecto antimicrobiano.....	24
4. 14 Pruebas de toxicidad de los principios activos.....	25
4. 15 Características generales de los microorganismos patógenos utilizados en el trabajo.....	27
4. 16 Características generales de los encinos (<i>Quercus</i>).....	29
V. ZONA DE MUESTREO.....	35
5.1 Tipos de vegetación.....	36
5.2 Fauna.....	36
5.3 Clima.....	36
5.4 Hidrografía.....	37
5.5 Suelo.....	37
VI. HIPÓTESIS.....	38
VII. OBJETIVO GENERAL.....	39
VIII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	39
IX. DISEÑO METODOLÓGICO.....	40
9.1 Fase de gabinete.....	40

9.2 Fase de campo.....	40
9.3 Fase de Laboratorio.....	41
X. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	45
10.1 Resultados de las propiedades físicas y químicas del suelo.....	45
10.2 Resultado del rendimiento del extracto.....	46
10.3 Microorganismos patógenos inhibidos por las diferentes estructuras y concentraciones del extracto.....	46
10.4 Resultados promedio del tamaño de los halos de inhibición del extracto de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland, sobre las cepas de bacterias en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL, en las estructuras de hoja, rama y corteza.....	48
10.5 Resultados promedio del tamaño de los halos de inhibición del extracto de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland, sobre las cepas de hongos en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL, en las estructuras de hoja, rama y corteza.....	56
10.6 Análisis del estudio de espectroscopia infrarroja.....	66
10.7 Resultados de las pruebas de toxicidad sobre <i>Artemia salina</i> Leach.....	72
XI. CONCLUSIONES.....	73
XII. APÉNDICE.....	75
XIII. BIBLIOGRAFÍA.....	90

ÍNDICE DE CUADROS

Número del cuadro	Cuadros	Página
1	Escala de McFarland	25
2	Métodos para realizar las determinaciones de las propiedades físicas y químicas del suelo donde crece el encino <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bonpland	41
3	Microorganismos empleados en el experimento	43
4	Resultados de las propiedades físicas y químicas del suelo donde crece <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland	45
5	Porcentaje de rendimiento del extracto seco de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland en cada una de sus estructuras	46
6	Resultados del total de microorganismos inhibidos por las diferentes estructuras y concentraciones del extracto de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland	47
7	Resultados promedio de los halos de inhibición (mm) en las diferentes concentraciones (120, 250 y 500 mg/mL) y estructuras (rama, corteza y hoja) de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland para bacterias	48
8	Resultados promedio de los halos de inhibición (mm) en las diferentes concentraciones (120, 250 y 500 mg/mL) y estructuras (rama, corteza y hoja) de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland para hongos	56
9	Resultado promedio del porcentaje de mortandad para cada una de las estructuras de la concentración mínima inhibitoria	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Número de la figura	Figuras	Página
1	Distribución geográfica del bosque de <i>Quercus</i> en México	30
2	<i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bonpland	33
3	<i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bonpland	34
4	Distribución geográfica de la especie <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bonpland en México	34
5	Mapa de ubicación de la zona de muestreo en San Antonio Tlaltecahuacan	35
6	Análisis de espectroscopia de infrarrojo para el extracto de Corteza	66
7	Análisis de espectroscopia de infrarrojo para el extracto de Rama	67
8	Análisis de espectroscopia de infrarrojo para el extracto de Hoja	68

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Gráfica	Pág.
1	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Streptococcus-β hemolítico</i>	49
2	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Streptococcus mutans</i>	50
3	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Staphylococcus aureus</i>	51
4	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Corynebacterium xerosis</i>	52
5	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Enterococcus faecalis</i>	52
6	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Escherichia coli</i>	53
7	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Mycobacterium phlei</i>	54
8	tamaño promedio de los halos de inhibición (mm) de las diferentes concentraciones del extracto de rama de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland en bacterias	55
9	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Candida albicans</i>	57
10	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Candida tropicalis</i>	58
11	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Candida stellatoidea</i>	59
12	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Cryptococcus neoformans</i>	59
13	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Candida krusei</i>	60
14	Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de <i>Geotrichum sp</i>	61
15	Tamaño promedio de los halos de inhibición (mm) con los diferentes hongos a la concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja rama y corteza de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland	62
16	Interacción concentración/microorganismo sobre el tamaño promedio de halos de inhibición para el extracto de corteza de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland	63
17	Interacción concentración/microorganismo sobre el tamaño promedio de halos de inhibición para el extracto de rama de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland	64
18	Interacción concentración/microorganismo sobre el tamaño promedio de halos de inhibición para el extracto de corteza de <i>Quercus obtusata</i> Humboldt & Bondpland	65

I. RESUMEN

México cuenta con 26 mil especies vegetales, presentando alguna propiedad medicinal cinco mil plantas, entre ellas se encuentran los encinos conocidos con el nombre genérico de *Quercus*, de gran importancia ecológica en la formación de suelo, filtración y conservación de los mantos acuíferos subterráneos. *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland, tiene gran importancia medicinal ya que evita la inflamación y sangrado de encías, dolor de muelas, dientes flojos, úlceras bucales y gingivitis, por ello la importancia de esta investigación donde comprobaremos ese efecto medicinal.

El sitio de muestreo fue en el municipio de Amecameca de Juárez, en el poblado San Antonio Tlaltecahuacan, donde se realizó la colecta vegetal (hoja, rama y corteza). El material vegetal se desinfectó, se seco y peso, para preparar las tinturas por medio de una maceración hidroalcohólica (Método Galénico) y así obtener el extracto en peso seco del encino en sus diferentes estructuras (hoja, rama y corteza), para evaluar tres concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL de cada estructura, sobre las siguientes cepas de bacterias: *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*, y hongos: *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida stellatoidea*, *Cryptococcus neoformans*, *Cándida krusei* y *Geotrichum sp.* Realizando los antibiogramas en medios de cultivo Mueller Hinton para bacterias y Dextrosa Sabouraud para hongos, por el método de Kirby-Bauer y la técnica de Barry. Así mismo se determinó la concentración mínima inhibitoria para cada microorganismo; posteriormente efectuamos un análisis de espectroscopia de infrarrojo al extracto de cada estructura de la planta, se efectuaron las pruebas de toxicidad para cada estructura sobre el crustáceo *Artemia salina* Leach, y finalmente realizamos los análisis físicos y químicos del suelo donde crece el encino *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland.

El mejor extracto fue corteza ya que sus tres concentraciones inhibieron a las siete cepas de bacterias y cuatro hongos; seguido por el extracto de rama, en donde la concentración de 120 mg/mL solo afectó a cuatro bacterias, y en las concentraciones de 250 y 500 mg/mL, se inhibió a cinco bacterias, para el caso de los hongos en sus tres concentraciones se inhibió a cuatro de ellos; por último, el extracto menos efectivo fue el de hoja ya que todas las bacterias fueron resistentes a las concentraciones de 120 y 250 mg/mL, y a la concentración de 500 mg/mL, cinco bacterias fueron sensibles al extracto, para el caso de hongos en la concentración de 120mg/mL, tres se ven inhibidos y en las concentraciones de 250 y 500 mg/mL, se inhibió a cuatro de ellos.

El espectro de infrarrojo del extracto de corteza, rama y hoja reveló la presencia de grupos funcionales; como OH asociados a un alcohol, OH asociado intermolecularmente a una cetona y compuestos aromáticos, solo difiere en que la rama presenta un enlace aldehído y una amida secundaria y en hoja presenta alcanos. En tanto la concentración mínima inhibitoria del extracto de corteza, rama y hoja no presentaron toxicidad sobre *Artemia salina* Leach. El suelo de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland, se determinó como un suelo ácido, con alto contenido de materia orgánica, arenoso con una buena aireación y drenaje, y el suelo esta clasificado como un andisol.

Palabras clave:

Planta medicinal, tintura, maceración, Método Galénico, extracto, concentración mínima inhibitoria, espectroscopia de infrarrojo, toxicidad, *Artemia salina* Leach.

II. INTRODUCCIÓN

México esta considerado como el tercer país con la mayor diversidad de nuestro planeta, ya que se estima a nivel mundial una totalidad de 250 mil especies vegetales, de las cuales solo se conoce para nuestro país una vegetación aproximada de 26 mil especies, y que de ellas se considera con alguna propiedad medicinal a cinco mil plantas, llevando a la investigación científica a un aproximado de 3500 plantas medicinales, verificando así las propiedades que se le atribuyen, desechando las que son inocuas y por ende no demostraron poseer esas propiedades medicinales que se le atribuían (Aguilar, 2001; Mittermier, 1988; Jorge, 2004).

Uno de estos grupos de plantas medicinales son los encinos conocidos con el nombre genérico de *Quercus*, los encinares son árboles cuya madera es muy fuerte y tienen una gran importancia ecológica en la formación de suelo, contribuyendo a la filtración y conservación de los mantos acuíferos subterráneos, gracias a ello se han realizado investigaciones tendientes a encontrar posibilidades de utilización a nivel medicinal debido a esas propiedades que el hombre a encontrado en él para sanar diversas enfermedades que afectan al humano y que hoy en día, el encino sigue siendo utilizado por sus propiedades medicinales (Zavala, 1990; Vázquez, 1992; Cañavarte, 1995).

Desde la antigüedad los encinos se usaban en su estado natural para curar dolencias y enfermedades como; inflamación y sangrado de encías, dolor de garganta y de muelas, dientes flojos, estomatitis, úlceras bucales, gastritis, dolor de estómago, diarrea, disentería, hemorragias intestinales, cáncer de estómago e intestinos, inflamación intestinal, acedías, heridas, granos quemaduras, llagas infecciones de la piel, caída de cabello, lavados vaginales, hemorragias vaginales, desviaciones de la matriz, baños posparto, enfriamiento después del parto, concepción, pulmones y tos, dolor al orinar, dolor muscular y diabetes, que aquejaban al humano, y que al paso del tiempo se fueron descubriendo sus virtudes medicinales (Gisbert, 1995; Luna *et al.*, 2003; Blumenthal *et al.*, 2000).

Entre los primeros usos que se le daban a los encinares, se encuentran en Asia y Europa, donde se empleaba la corteza y la bellota, en forma de decocción, para combatir disentería y hemoptisis. El cocimiento de las hojas bebido junto con leche, era empleado como neutralizador de sustancias tóxicas (Blumenthal *et al.*, 2000; Gisbert, 1995).

En América sus usos fueron variados y utilizados por varias culturas una de ellas los Aztecas, quienes arrancaban las hojas y las colocaban en agua hirviendo, para posteriormente utilizar el agua de esta infusión en muchas enfermedades como el flujo llamado hepático, eliminaba las piedras de los riñones, ayudaba en las purgaciones de los niños, en el caso de enfermedades bucales ellos preparaban una cocción con la corteza y hacían buches para aliviar síntomas como dolor de muelas y sangrado de encías (Blumenthal *et al.*, 2000; Gisbert, 1995).

En América del Norte los indios Menominee y los Potawatomi utilizaban tanto hojas como corteza en su estado natural para tratar heridas, fisuras nasales y diarreas, hacían

jeringas con la vejiga de un animal y el hueso hueco de un ave, para así inyectar la decocción de la corteza en el recto y curar las hemorroides (Bown, 1996).

En la actualidad el encino sigue siendo utilizado por sectores de la población como una planta medicinal, puesto que esas virtudes medicinales han sido heredadas generación tras generación, y que gracias a ello se han llevado varias pruebas en la cura de muchas enfermedades, por ejemplo se ha utilizado la corteza como astringente gracias al tanino llamado cuercitanino o ácido cuercitánico, virtud que se reconoce desde la remota antigüedad, en cocimiento acuoso, da buenos resultados en el tratamiento de las hemorragias determinadas por la metritis y los fibromas uterinos, contra la leucorrea, la blenorragia, las hemorroides y las fisuras del ano. Otros usos que también se han llevado a cabo es utilizando el polvo de la corteza en el tratamiento de la piorrea, gingivitis, aflojadura de los dientes y en la inflamación de las encías (Quer, 1961; Jiménez 1994; Gisbert, 1995; Samano, 1998).

En el caso de las hojas también se han utilizado como astringente y depurativo, útil en las diarreas crónicas y disentería, cólera, inflamaciones renales y de la vejiga, reglas excesivas, leucorreas, fístulas, hemorragias, úlceras y flujo blanco (Quer, 1961; Jiménez 1994; Gisbert, 1995; Samano, 1998).

Pero aquí surge un problema; algunos encinos contienen ácido cuercitánico el cual es muy irritante y puede afectar las vías digestivas, por consiguiente es importante saber que tanto la corteza como la hoja no son recomendables para uso interno, sino para uso externo, además de ello también se sabe que elevadas dosis tanto de hoja como corteza pueden causar irritación y sangrado a nivel dérmico (Quer, 1961; Jiménez 1994; Gisbert, 1995; Samano, 1998).

Hoy en día sabemos que las plantas contienen principios activos los cuáles son responsables de su eficacia medicinal. La importancia de las plantas medicinales surge en cuanto a si es medicinal o no, luego que parte de la planta (raíz, hoja, flor, fruto, rama, corteza o tallo) posee efecto terapéutico, y por supuesto saber que dosificación es la correcta para no causar una intoxicación, o trastornos no deseados e incluso la muerte, ciertas plantas producen efectos curativos en el humano y los animales, el problema es la dosificación, debemos conocer cual es el limite entre lo que cura y lo que mata antes de utilizarla sobre un ser vivo (Schauenberg y Paris, 1980).

III. JUSTIFICACIÓN

El empleo de las plantas medicinales en la salud humana cumple un papel preponderante en la atención primaria de la salud, atendiendo a casi un 80% de la población que habita en el planeta. La falta de accesibilidad a los medicamentos básicos ha sido una constante para los países en vías de desarrollo en los últimos 25 años, lo cual ha generado la necesidad de incorporar aquellas prácticas tradicionales propias de civilizaciones muy antiguas pero que han marcado importancia en el acervo cultural de muchos países (Jorge, 2004).

Desafortunadamente estudios recientes han llevado a la conclusión de que ciertas plantas no tienen esas virtudes medicinales que se les atribuían, puesto que han fracasado al someterlas a la experimentación clínica, por lo que sabiéndose que son ineficaces, dejen de usarse, por otro lado, al hacer experimentación con determinados animales, se ha encontrado que el principio activo de algunas plantas son altamente tóxicos a ciertas dosis. Por ello es importante conocer el nivel de dosificación que debemos emplear, para no llegar a intoxicaciones que provoquen esos efectos secundarios negativos e incluso la muerte (Martínez, 1996).

La importancia de este trabajo radica en validar científicamente las propiedades medicinales que se reportan en la medicina tradicional, conocer que parte de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland (rama, hoja y corteza), es la que demuestra tener efecto antimicrobiano, y conocer la concentración mínima inhibitoria que erradicará la proliferación de algunos patógenos del hombre. Además de saber cuales son las condiciones ambientales donde crece el encino y evaluar si la concentración mínima inhibitoria es tóxica, mediante una prueba de microtoxicidad, utilizando como modelo experimental a *Artemia salina* Leach.

IV. MARCO TEÓRICO

4.1 Plantas medicinales

Se define como planta medicinal cualquier vegetal que contenga, en cualquiera de sus órganos, alguna sustancia con actividad farmacológica que se pueda utilizar con fines terapéuticos, la acción benéfica de estas plantas sobre un organismo enfermo se debe a que contienen ciertas sustancias o principios activos que se pueda emplear como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis o hemisíntesis farmacéutica (Kukinskli, 2003; Vila, 2004; Ratera y Ratera, 1980).

Las plantas medicinales son la base de la medicina ya que la mayoría de los medicamentos mas eficaces contiene las sustancias activas derivadas del reino vegetal (Gisbert, 1995).

4.2 Historia de las Plantas Medicinales

El estudio de las plantas medicinales se remonta prácticamente al principio de la evolución del hombre sobre la tierra. El hombre prehistórico observaba el comportamiento instintivo de los animales a la hora de restaurar sus heridas o paliar sus enfermedades. En su continuo deambular pudo observar que ciertas especies resultaban aptas para el consumo alimenticio y otras eran tóxicas Dichas observaciones dieron origen al proceso intuitivo que caracterizó al hombre primitivo y que permitió al mismo ensayar con diversas plantas a efectos de discernir cuales poseían efectos medicinales y cuales no, con ello podemos darnos cuenta que la recolección de plantas para fines medicinales data desde la más remota antigüedad.

Los antiguos sumerios conocían buen número de ellas desde una época tan antigua como el año 2500 a. C., según unas tablas de arcilla encontradas por el Dr., Capmpell, en la biblioteca del rey asirio Asubanipal. Los asiros conocían unas 250 plantas medicinales. Los papiros de los antiguos egipcios, escritos hacia 1600 a. C., registran los nombres de numerosas drogas usadas por los médicos de ese periodo, contándose entre ellas el aceite de oliva, el azafrán, la almaciga, las bayas del saúco, el aceite de ricino, la lechuga silvestre, el hinojo, la canela y el comino.

Los conocimientos egipcios se extendieron rápidamente por Mesopotamia y alcanzaron Grecia. Se ha calculado que en Babilonia se empleaban más de 200 plantas medicinales.

Los griegos supieron aprovechar la herencia egipcia y dieron un cierto sentido científico al uso de las plantas medicinales: a cada enfermedad le aplicaban un remedio.

Hipócrates, que vivió en el siglo V antes de C., siguió aplicando el mismo método, marcando pautas y dosis de administración. Hoy es considerado el padre de la medicina.

Hubo que esperar hasta el siglo I de nuestra era para que naciera Dioscorides nombrado el padre de la fitoterapia, en su obra Materia médica recoge todo el saber de su tiempo

sobre las plantas medicinales: el cual consta de 6 libros en los que describe 600 especies de plantas vegetales.

En Roma, Galeno (nacido en Grecia en el año 131-200 después de J.C.), da un paso adelante en el conocimiento de las hierbas al marcar pautas para la extracción y formas de administración de los principios activos: utiliza para ello alcohol, agua o vinagre y describe las formas de administración, como los emplastos. En su honor, se ha denominado (Galénica) la rama de la Farmacia que trata de la preparación de medicamentos.

En el siglo XIX, los avances que experimentan las ciencias gracias a investigadores como Darwin (Teoría de la Evolución) y Mendel (leyes de la herencia) permiten estudiar las plantas desde una óptica más profunda y menos sensacionalista. Se extraen los principios activos de las plantas, se aíslan, se identifican (fitoquímica) y se establece una relación causa efecto, es decir, se investiga que efecto ocasiona una sustancia determinada extraída de una planta sobre un animal. A partir de entonces ya no se habla de las propiedades de tal o cual planta sino de las propiedades de tal compuesto (Flores, 1997; Youngken, 1951; Fernández y Cuesta, 1994; Martínez, 1996; Jorge, 2004; Ramírez, 1989).

4.3 Las plantas medicinales en el México prehispánico

El conocimiento de las plantas medicinales se tiene en América a partir de la invasión del territorio por poblaciones humanas asiáticas con conocimientos anteriores de recolectores y cazadores adquiridos en otros ámbitos, inician los procesos conducentes a la utilización de los recursos por medio de la agricultura y la domesticación de numerosas especies de plantas y algunos animales (Linares y Bye, 1999; Soto y Sousa, 1995, Linares *et al.*, 1996).

En el siglo X se formó un grupo importante, los Toltecas que sabían y conocían las cualidades de las plantas, sabían las que eran de provecho y las que eran dañinas o mortíferas; por la gran experiencia que tenían de ellas, dejaron señaladas y conocidas las que ahora se utilizan para curar, eran tan hábiles de conocer las plantas medicinales que ellos fueron los primeros médicos botánicos (Linares y Bye, 1999; Valencia *et al.*, 1993; Soto y Sousa, 1995, Linares *et al.*, 1996).

Posteriormente tras la caída de los toltecas se formó otra civilización, los Aztecas en el siglo XIV ellos grandes médicos naturistas que llevaban una vida estrecha con la naturaleza, erradicaron varias enfermedades con el uso de las plantas medicinales, siendo las enfermedades mas sobresalientes las bubas (enfermedades producidas por virus), las calenturas, el romadizo (catarro), y el tabardete (fiebres), utilizando diversas plantas como la raíz de Michoacán, la andámucua o tabaco y chupírini, la forma de curación se basaba en sangrías, purgas y sahumeros aunados a temascales y los baños de aguas termales (Linares y Bye, 1999; Valencia *et al.*, 1993; Soto y Sousa, 1995, Linares *et al.*, 1996).

Ya en 1552 cuando los españoles habían conquistado México, diversos libros se empezaron a escribir, en los cuales se enumeraba una gran cantidad de especies medicinales, uno de ellos el más importante y en donde se mencionan aproximadamente 300 especies vegetales, así como la manera de preparación y sus aplicaciones es el Códice Badiano escrito por el indígena Xochimilca Martín de la Cruz y traducido del náhuatl al latín por Juan Badiano. Entre las plantas medicinales más importantes se encuentra el tlályetl (árnica) utilizada para aliviar las almorranas, lavar heridas, moretones y ronchas, el copaliyacxinhtontli (cempasúchil) utilizado contra la inflamación del vientre o del estómago, el epázotl (epazote) arroja del vientre animales nocivos, el cuahuitztzilxochitl (hierba de la virgen) se utiliza contra fiebres, vómitos y es purgante, el mapilxochitl (flor de manita) se utiliza contra el mal de corazón y nerviosismo, el tzonpotónic (gordolobo) sirve para curar la tos, el empacho, dolores de vientre, el xalxocotl (hojas de guayaba) es útil en la disentería, es astringente, se utiliza contra la sarna, alivia piernas hinchadas y la sordera, el tlaltzitzicaztli (ortiga) sirve para quitar reumas y para la circulación, el cuauhiyauhtli (pericón) sirve para eliminar la diarrea, corrige el mal aliento, sana el salpullido, cura la fiebre, elimina la tos y aumenta la leche, el pet'k'kin-ki (zábila) es purgante, se utiliza contra hemorroides contra tumores, para la artritis y quemaduras.

En este mismo libro se puede conocer como los nativos llegaron a utilizar gran cantidad de vegetales que describieron por medio de símbolos, dibujos y representaciones mixtas, la iconografía fue su principal recurso, además debido a su fina observación pudieron ordenar sus conocimientos sobre las plantas por medio de un sistema de clasificación artificial, fundado en caracteres de afinidad, color, forma, y propiedades de las plantas medicinales.

Esta inmensa cultura que se ha obtenido a lo largo de los años, ha recobrado importancia en el uso de las plantas medicinales. Puesto que para muchas comunidades hoy en día se carece de centros de atención médica y donde dicho conocimiento y conservación de sus recursos naturales sigue siendo utilizados como la primera y en muchas ocasiones como la única opción, para curar sus padecimientos (Linares y Bye, 1999; Valencia *et al.*, 1993; Soto y Sousa, 1995, Linares *et al.*, 1996).

4.4 Ventajas del uso de las plantas medicinales

Estos son de manera esquemática algunos de los argumentos a favor del uso de las plantas medicinales, y que, sin desmerecer a los medicamentos convencionales, pueden ser tenidos en cuenta en determinadas situaciones que afecten la salud:

***Reparación global del organismo:** las plantas medicinales ejercen sobre el organismo una acción global más efectiva que los medicamentos a causa, básicamente, de la interacción entre sus diferentes principios activos.

***Un mayor efecto preventivo:** las plantas medicinales tienden a estimular una acción protectora y reguladora de las funciones defensivas del organismo, preparándolo contra la actividad de posibles agentes externos.

***Menores efectos secundarios:** probados durante milenios, muchas veces el efecto de las plantas medicinales puede ser mas suave o progresivo que el obtenido con determinados medicamentos, con el aliciente de las escasas posibilidades de efectos secundarios o secuelas.

***Efecto más duradero:** debido a su mejor tolerancia, los tratamientos con las plantas medicinales pueden seguirse durante largos periodos.

***Acción polivalente:** a diferencia de los medicamentos, que son prescritos para una dolencia muy específica, las plantas medicinales, a causa de sus múltiples propiedades, pueden actuar sobre diferentes dolencias al mismo tiempo.

***Complemento seguro:** las plantas pueden servir también como complemento a tratamientos con medicamentos convencionales (Cebrian, 2002; Ortega y Príncipe, 2005).

4. 5 Desventajas del uso de las plantas medicinales

El uso de las plantas medicinales no garantiza un buen efecto en el organismo humano si no se llevan a cabo las siguientes recomendaciones;

***Mal manejo de las plantas:** las plantas pierden efecto medicinal si no son colectadas a la hora y en la época adecuada, así como en el secado ya que al ser deficiente este, provoca que la humedad origine hongos que al paso del tiempo debilitaran a la planta.

***Equivocación en cuanto a la determinación de la planta medicinal:** algunas plantas son muy parecidas en cuanto a su morfología y eso puede crear conflictos, lo cual traerá consigo que la enfermedad no desaparezca ya que la planta utilizada no es la misma a la especie que demostró tener un efecto medicinal y por lo tanto no aliviara dicha enfermedad.

***Mal administración en la dosis:** las plantas medicinales ofrecen efecto medicinal a dichas concentraciones, pero al ser administrado en tes o al masticar una parte de la planta la concentración puede ser muy baja lo cual no contrarresta la dolencia o enfermedad, caso contrario puede ser también que la dosis es muy fuerte lo cual podría provocar efectos nocivos como vómitos, diarreas y sangrados (Cebrian, 2002; Ortega y Príncipe, 2005).

4. 6 Propiedades y efectos de las plantas medicinales

Las plantas contienen principios activos que son la parte más importante en la eficacia del extracto, según su grupo funcional destacan sus propiedades, el cual determina las características de la planta medicinal, y que están formados por diversas sustancias las cuales tienen distintas propiedades y efecto, entre los mas comunes podemos mencionar:

***Afrodisíacos**; son agentes a los que se les atribuye una acción estimulante de la libido, lo podemos encontrar en las plantas como el anacahuite, nuez, menta, lúpulo y ginseng (Gisbert, 1995).

***Analgésicos**; son agentes que calman o suprimen el dolor por depresión de los centros nerviosos sensitivos. Entre las plantas que tienen este efecto medicinal podemos mencionar el opio, coca, pie de león, ortiga menor, sávila y pimienta (Youngken, 1951).

***Antiasmáticos**; sustancias que producen una relajación de los músculos bronquiales con subsiguiente dilatación de los bronquiolos, ejemplos; efedra, toloache, lobelia, árnica, gordolobo y licopodio (Ortega y Príncipe, 2005).

***Antibióticos**; agentes producidos por células vivas de los hongos y de las bacterias o de las plantas, y que destruyen los microbios ó inhiben su crecimiento ejemplos; encino, pino, pericón, eucalipto, ginseng, ruda, melisa y sávila (Chiereghin, 2000).

***Antidiarreico**; se encarga de combatir las diarreas y los desordenes intestinales, ejemplo; geranio, linaza, zarzamora, bledo, epazote, pericón, quelite, nopal, estafiate y guayaba (Luna, 2000).

***Antieméticos**; sustancias que suprimen o evitan el vomito, ejemplos belladona, coca y marihuana (Lemus, 1998).

***Antiespasmódicos**; agentes usados para calmar los espasmos de los músculos voluntarios e involuntarios ejemplo; valeriana, sumbul, tomillo, melisa, lavanda, manzanilla, tilo y regaliz (Gisbert, 1995; Youngken, 1951).

***Antihelmínticos**; compuestos empleados para expulsar (vermífugos) o para matar (vermicidas) los gusanos intestinales, ejemplo; brionia blanca, helecho macho y menta (Gisbert, 1995; Youngken, 1951; Ortega y Príncipe, 2005; Chiereghin, 2000; Luna, 2000; Lemus, 1998).

***Antifúngicos**; se encarga de combatir el desarrollo de algunos hongos entre las plantas que combaten estas enfermedades podemos mencionar, al encino, pericón, pino, barquilla, cacalósúchil, nogal y malvón (Lemus, 1998).

***Antisépticos**; agentes físicos o químicos que evitan la putrefacción, infección o cambios similares, de los alimentos y tejidos vivos, destruyendo los microorganismos o impidiendo su desarrollo, ejemplo; hierba doncella, marrubio blanco, ajo, eucalipto, manzanilla, limón, salvia, tomilla y cebolla (Gisbert, 1995).

***Astringentes**; sustancia que contrae, aprieta, estrecha y endurece los tejidos, además de matar todo organismo que pueda causar alguna infección, y ayudan a coagular la sangre, ejemplo alcornoque, encino, pericón, pino, pie de león, ciprés, árnica, limón, nogal y romero (Chiereghin, 2000; Luna, 2000; Lemus, 1998).

***Digestivos;** son agentes empleados para ayudar a la digestión de los alimentos ya que estimula la producción del jugo gástrico, ejemplo; acacia, madre selva, manzanilla, prodigiosa, tabaquillo, limón y sávila (Ortega y Príncipe, 2005).

***Eméticos;** sustancias que causan vomito, ejemplo; ipecuana (Gisbert, 1995; Youngken, 1951; Ortega y Príncipe, 2005; Chiereghin, 2000; Luna, 2000; Lemus, 1998).

***Hemostáticos;** son agentes empleados para detener la hemorragia, ejemplo; Hierba del pollo, quelite, geranio, equiseto menor y bleo (Luna, 2000; Lemus, 1998).

***Narcóticos;** son aquellos que suprimen el dolor y el malestar e inducen el sueño. En dosis mayores produce un estado reversible de profunda inconciencia, ejemplo; opio, coca y marihuana (Ortega y Príncipe, 2005; Chiereghin, 2000; Luna, 2000; Lemus, 1998).

***Parasitidas;** son sustancias que destruyen los parásitos que se alojan dentro del organismo, ejemplo; espliego, aguacate, epazote, girasol y estafiate (Gisbert, 1995; Youngken, 1951; Ortega y Príncipe, 2005; Chiereghin, 2000).

***Vitamínicas;** las vitaminas deben ser aportadas a través de la alimentación, ya que, no pueden ser sintetizadas por el cuerpo humano. Son esenciales en el metabolismo y necesarios para el crecimiento y, en general, para el buen funcionamiento del organismo, las podemos encontrar en el tomate, zanahoria, limón, naranja, tamarindo, fresas, granadas, sandía, manzanas, uvas, peras, piña, melocotón, así como en las verduras, cebollas, calabazas etc., (Lemus, 1998).

4. 7 Principios activos o metabolitos secundarios de las plantas medicinales

El principio activo es una sustancia pura, principal responsable de las acciones y efectos farmacológicos que posee el extracto y por lo tanto de su uso terapéutico.

Los principios activos son en general metabolitos secundarios de las plantas, los cuales dan lugar a una vasta serie de compuestos; algunos de estos son responsables de olores característicos, causticidad, y colores de las plantas; otros comunican a las plantas sus virtudes culinarias, medicinales o venenosas.

Los principios activos son relativamente estables, por lo que la mayor parte de ellos se pueden encontrar tanto en la planta fresca como en la planta desecada (Domínguez, 1979; Villar, 1999; Kukinskli, 2003; Jorge, 2004; Trease y Evans, 1987).

Los principios activos de las plantas medicinales son sustancias que la planta ha sintetizado y almacenado en el curso de su crecimiento con ayuda del metabolismo. Sin embargo, no todos estos productos metabólicos tienen un valor medicinal directamente aprovechable. En todas las especies están presentes principios activos y sustancias indiferentes llamadas de lastre, determinan la eficacia del medicamento vegetal en

cuestión al acelerar o hacer más lenta la absorción de los primeros en el organismo (Pahlow, 1985; Ticli, 2005).

Casi siempre en una misma planta existen varios componentes medicinalmente activos, de los cuales a veces uno de ellos, el principal, determina las aplicaciones que tendrá la especie en cuestión. Sin embargo, el grado en el que los componentes secundarios influyen sobre la acción queda puesto de manifiesto al aislar el principio activo principal. Es muy frecuente que su efecto sea entonces totalmente distinto. Solamente el concierto de todos los componentes, incluyendo los de lastre, confiere a la planta su acción específica (Pahlow, 1985; Ticli, 2005).

Los principios activos no se distribuyen de una manera uniforme por toda la planta, se concentran preferentemente en las flores, hojas, raíces, corteza y en menor medida en las semillas, frutos y ramas (Pahlow, 1985; Ticli, 2005).

La fuerza curativa y reparadora de las plantas medicinales viene dada por una amplia variedad de principios activos que son capaces de producir a partir de sustancias tan simples y tan comunes en el medio ambiente que nos rodea como el agua, el dióxido de carbono o el nitrógeno. Conocer a fondo como actúan estos componentes activos es indispensable para llegar a descubrir el comportamiento de las plantas en nuestro organismo y la manera en que inciden sobre nuestra salud.

Las plantas actúan como minilaboratorios químicos. A partir de dos sustancias inorgánicas como el agua, que absorben del suelo, y el dióxido de carbono, que captan del aire, son capaces de producir glucosa a través de la fotosíntesis. Esta reacción química es posible gracias a un pigmento de color verde que únicamente se encuentra en las plantas, la clorofila, capaz de captar la energía del sol y transformarlo en materia viva. Por este proceso químico del que participan el agua, el dióxido de carbono y la luz solar se obtienen la glucosa y el almidón, base de la vida química en el planeta. La glucosa y el almidón producidos por las hojas se combinan con las sales minerales absorbidas por las raíces, lo que permite a las plantas sintetizar diversos principios activos como lípidos, taninos, glucósidos y vitaminas (Cebrian, 2002).

Hasta la fecha se han identificado más de 12, 000 principios activos, con lo cual más del 50% de medicamentos actuales y cosméticos utilizan estas sustancias extraídas de la plantas o sintetizadas a partir de ellas (Cebrian, 2002; Ticli, 2005). Entre los principios activos más importantes tenemos;

***Aceites esenciales;** son los responsables del olor característicos de las plantas, son importantes en la polinización y en la dispersión de las diásporas por su agradable olor para los insectos, además constituye un medio de defensa contra depredadores (bacterias, hongos, insectos, herbívoros y posiblemente virus). Son mezclas de un número variable de sustancias orgánicas olorosas. En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como sus derivados oxigenados alcoholes, cetonas, ésteres, éteres, aldehídos, óxidos, peróxidos, fenoles, se pueden encontrar en todos los órganos vegetales: como en las flores, hojas, y en menos concentración en raíces, rizomas, cortezas, frutos o semillas.

En los vegetales los aceites esenciales se encuentran entre el 0,1 a 10% del peso total, todas las plantas medicinales que contiene aceite esenciales poseen en común las siguientes propiedades curativas: antiinflamatorias en las irritaciones cutáneas mas o menos intensas, expectorantes, diuréticos, antiespasmódicos, tonificantes sobre el estomago, el intestino, la bilis y el hígado, antiséptica, carminativa y eupéptica.

Es preciso tener en cuenta que algunos aceites esenciales, sobre todo a dosis elevadas, son tóxicos, principalmente a nivel del sistema nervioso central, algunos de ellos poseen propiedades abortivas como la ruda y el enebro, y otros pueden causar problemas tópicos, irritación o alergias.

Entre las plantas que presentan aceites esenciales podemos mencionar; manzanilla, menta, anís, eucalipto, jengibre, toronjil, laurel, canela y clavo (Pahlow, 1985; Ortega y Príncipe, 2005; Chiereghin, 2000; Jean, 1991; Jorge, 2004; Tyler *et al.*, 1979).

***Ácidos orgánicos;** derivan de los aldehídos por fijación de oxígeno, que le confieren un sabor ácido. En su mayor parte se encuentran presentes en los frutos comestibles.

Entre ellos tenemos el ácido tartárico, oxálico, cítrico, succínico y fumárico (los últimos tres son partícipes del ciclo de Krebs y se especula que tengan efectos beneficiosos en procesos degenerativos y oxidativos). El ácido tartárico (presente en la vid, tamarindo, cassia) y el ácido oxálico (presente en la acedera, ruibarbo, espinaca) presentan varios efectos, en especial diurético y laxante.

Además cumplen con varias funciones dentro del organismo cuando son ingeridos. Por ejemplo, los ácidos cítrico y tartárico aumentan la salivación y poseen actividad bacteriostática, lo cual contribuye a mantener los dientes en mejores condiciones. Asimismo, poseen acción diurética y laxante suave.

En cambio el ácido málico de la manzana tiene acción astringente, lo cual es útil en casos de colitis o diarreas. Otro ácido útil y muy conocido es el ácido salicílico cuya acción es antiinflamatoria y analgésica. Sin embargo, no todos los ácidos orgánicos son beneficiosos. Por ejemplo el ácido oxálico puede precipitar en el aparato urinario (en forma libre o como sales) y colaborar en la formación de cálculos. Los ácidos orgánicos los podemos encontrar en la acedera, y ruibarbo (Jorge, 2004; Schauenberg y Paris, 1980).

***Alcaloides;** se preconiza que cumplirían funciones defensivas frente a parásitos o insectos; también como reserva de nitrógeno, como reguladores del crecimiento vegetal, o serían productos de excreción del propio metabolismo vegetal, los podemos encontrar en tegumentos de la semilla, capaz externas de la corteza, tallos, raíces y en las hojas.

Se trata de compuestos orgánicos nitrogenados de origen vegetal en su mayoría, que contengan nitrógeno, hidrógeno, carbono y oxígeno. Entre las diferentes actividades podemos destacar: actividad sobre el sistema nervioso central, como por ejemplo morfina de la adormidera y el opio, que deprime el SNC (Sistema Nervioso Central) y produce una marcada analgesia, o la cafeína, quien por el contrario excita al SNC. En

algún caso por ejemplo la cocaína de las hojas de la coca, la actividad es anestésica local, la quinidina de la corteza de quina, con propiedades antiarrítmicas; la colchicina, alcaloide que se encuentra en el cólchico y presenta actividad en el ataque agudo de gota; alcaloides como la vincristina del *Catharanthus roseus*, con actividad antitumoral que han resultado de gran eficacia en el tratamiento de determinados tipos de cáncer.

Por otra parte, se encuentran en algunas especies vegetales alcaloides especialmente tóxicos que es preciso conocer como la aconitina de la raíz del acónito o la conina de la cicuta. Dada la actividad toxica tan marcada en muchos de estos compuestos, en bastantes ocasiones no se emplean las plantas que contienen alcaloides sino los alcaloides aislados de las mismas, controladas y dosificadas (Jorge, 2004; Schauenberg y Paris, 1980; Pahlow, 1985; Chiereghin, 2000; Ramírez, 1989; Jean, 1991; Trease y Evans 1987; Ortega y Príncipe, 2005; Domínguez, 1979; Hostettman *et al.*, 1995; Elizabeth *et al.*, 1998; Anderson *et al.*, 2002; Daniel, 2006; Tyler *et al.*, 1979).

***Almidones**; principal sustancia de reserva de los vegetales, el almidón es una fuente energética indispensable en la alimentación del hombre y de gran número de animales. Presente en todos los órganos vegetales, los podemos encontrar en grandes cantidades en maíz, arroz, trigo, avena, cebada, plátanos, papas, etc., Tiene un alto poder energético pues libera glucosa en las células y actúa como antiinflamatorio sobre la piel y las mucosas (Cebrian, 2002; Jean, 1991; Trease y Evans 1987; Tyler *et al.*, 1979).

***Antocianinas**; son pigmentos hidrosolubles responsables de las coloraciones roja, rosa, azul o violeta de las flores y de los frutos, algunas veces de las hojas. Ejercen una acción antiinflamatoria, antisepsia, y vasoprotectora la podemos encontrar en el arandino, el rosal y la zarzamora (Cebrian, 2002; Jean, 1991; Trease y Evans 1987).

***Cumarinas**; son ésteres internos de los ácidos compuestos. Son lactosas fenólicas que forman parte, en las plantas y las cuales derivan del ácido cinámico y toman en los heterósidos diferentes formas, las podemos encontrar en las hojas, en los frutos, las semillas y las raíces.

Las cumarinas al tener esculósido tiene importantes propiedades venotónicas, protectoras vasculares, por lo que se utiliza en trastornos venolinfáticos (hemorroides, edemas) y en casos de fragilidad capilar.

El psoraleno, es fotosensibilizante, estando indicado en psoriasis y vitíligo, y otras, como la valina, presentan una acción espasmolítica.

La piranocumarina y la visnadina presentan propiedades vasodilatadoras coronarias, utilizándose actualmente en los trastornos cerebrales de la vejez.

Existen otras cumarinas como el dicumarol del meliloto fermentado, que se emplea actualmente en los productos destinados a matar ratas y ratones, ya que actúa como anticoagulante de la sangre gracias a la presencia de la antivitamina K.

Las podemos encontrar en el meliloto, trébol de olor, castaño de indias, biznaga y kela (Villar, 1999; Schauenberg y Paris, 1980; Kukinski, 2003; Tyler *et al.*, 1979).

***Flavonoides;** son compuestos fenólicos, hidrosolubles. Entre los constituyentes mejor conocidos de los flavonoides figuran rutina, quercitina y los bioflavonoides cítricos (hesperidina, hesperetina y diosmina), son en su mayoría pigmentos responsables de la coloración de numerosas flores y de algunos frutos, además de participar en la atracción y guía de los polinizadores, además de protección frente a la radiación ultravioleta y en la defensa contra patógenos.

Entre las funciones terapéuticas, podemos mencionar que es antihemorrágica, antiarrítmica, protectores de la pared vascular capilar, antiinflamatoria, antibacteriana, antivírica, antifúngica, diurética y antiespasmódica, los podemos encontrar en Perifollo, cicutaria, brezo, bolsa de pastor, espino blanco, cola de caballo, trigo negro, girasol, ortiga blanca, ruda y gualda (Domínguez, 1979; Pahlow, 1985; Cebrian, 2002; Jean, 1991; Schauenberg y Paris, 1980; Kukinski, 2003; Villar, 1999; Tyler *et al.*, 1979; Daniel, 2006; Anderson *et al.*, 2002; Elizabeth *et al.*, 1998; Hostettman *et al.*, 1995).

***Glucósidos;** toda planta viviente produce glucósidos, también llamados azúcares, o hidratos de carbono, esta resulta de la unión de un azúcar con un aglicón, y contiene en su estructura una función aldehído, o cetona y el resto de los carbonos hidroxilados, están implicados en el almacenamiento de energía (almidón), en el transporte energético (sucrosa), así como también en la construcción de las paredes celulares (celulosa). Los mucílagos tomados en dosis débiles frenan el movimiento peristáltico del tubo digestivo y tienen una acción antidiarreica. A dosis fuertes por el contrario, son laxantes, provocando el hinchamiento de los alimentos en el intestino, lo que activa la eliminación de estos. Al entrar al tubo digestivo, los mucílagos tapizan las paredes de los órganos y recubren las mucosas con una capa viscosa que atenúa las irritaciones.

Retardan la penetración de las sustancias químicas, disminuyendo así la penetración de los sabores amargos o ácidos. Estos glucósidos, aplacan la tos provocada por la irritación de las mucosas de las vías respiratorias, además es antibiótico, podemos encontrar los glucósidos en las siguientes plantas acanto, grama del norte, malvavisco, borraja, membrillo, soya, cebada, malva gris, llante, polipodio y rosal castellano (Schauenberg y Paris 1980; Ortega y Príncipe, 2005; Chiereghin, 2000; Villar, 1999; Jean, 1991; Pahlow, 1985; Ramírez 1989; Anderson *et al.*, 2002; Elizabeth *et al.*, 1998).

***Minerales;** algunos están formados de sales solubilizadas (cloruros, sulfatos, nitratos y fosfatos), otros formando sales cristalizadas (carbonato cálcico, oxalato cálcico etc.) y ciertos oligoelementos (magnesio, manganeso, silicio, hierro, yodo, flúor, etc.), son un suplemento reconstituyente y los podemos encontrar en la borraja, pulmonaria, ortiga, diente de león, ajenjo, alcachofera y cola de caballo (Kukinski, 2003; Cebrian, 2002).

***Mucílagos;** son polisacáridos complejos, constituidos por unidades de azúcar y ácido urónico, su función en la planta es de retener agua y colaborar en el proceso de germinación, los podemos hallar en raíces, bulbos, tubérculos, flores y semillas, a nivel medicinal se utilizan como emoliente (efecto suavizante y calmante sobre piel y mucosas) y antiinflamatorias: se utilizan, por vía tópica, en el tratamiento de granos, forúnculos y hematomas. También se utiliza como Antitusígeno: producen una película

que protege la mucosa y calma la inflamación, el dolor y la irritación; atenúa los espasmos y favorecen la irrigación, produciendo descongestión de las vías respiratorias.

Además son protectores de las mucosas del tracto digestivo; forman una película que protege la mucosa digestiva de los agentes irritantes y se usan en el tratamiento de la úlcera gástrica. Los podemos encontrar en el llantén mayor, tusilago, malva, malvavisco, pulmonaria, gordolobo, tilo y el olmo (Jorge, 2004; Ortega y Príncipe, 2005; Trease y Evans, 1987; Kukinskli, 2003; Cebrian, 2002; Daniel, 2006).

***Principios amargos;** son sustancias diversas que tienen en común un intenso sabor amargo, capaz de estimular la secreción de las glándulas salivales y regular las funciones del sistema digestivo. Contienen estas sustancias el laurel, el ajeno y la genciana (Cebrian, 2002).

***Saponinas;** son heterósidos azúcar mas aglicón que se caracterizan por sus propiedades para producir espuma cuando se agita una solución acuosa que las contiene.

Las propiedades de los saponinas es que son antimicrobianas, antifúngicas, tienen propiedades hemolíticas, que suelen atribuirse a su interacción con el colesterol de la membrana eritrocitaria, son tóxicos para los animales de sangra fría, especialmente para los peces. En el humano no presenta toxicidad salvo, excepciones, más que una pequeña toxicidad por vía oral, otras propiedades que se le atribuyen a las saponinas es que son antihemorroidales y cicatrizantes, entre las plantas con saponinas podemos mencionar a la raíz de polígala, la raíz de regaliz, el rizoma de rusco, la corteza y semillas de castaño de indias, el gordolobo, la primavera y la saponaria (Jean, 1991; Ortega y Príncipe, 2005; Kukinskli, 2003; Daniel, 2006; Hostettman *et al.*, 1995; Elizabeth *et al.*, 1998; Anderson *et al.*, 2002; Tyler *et al.*, 1979).

***Taninos;** se trata de compuestos polifenólicos hidrosolubles (proteínas, alcaloides, celulosas, gelatina) resultado de la combinación de un fenol y un azúcar. Suelen acumularse en las raíces, cortezas y en menor medida en las hojas de las especies que los contienen. En el vegetal, los taninos se localizan en vacuolas, generalmente combinados con alcaloides y proteínas, cumpliendo una función defensiva frente a insectos.

Las aplicaciones de las drogas derivan de sus propiedades astringentes: por vía interna ejercen un efecto antidiarreico y antiséptico, por vía externa impermeabilizan las capas mas externas de la piel y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes; a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales. Al precipitar las proteínas, los taninos originan un efecto antimicrobiano y antifúngico. Además los taninos son hemostáticos y, como precipitan los alcaloides, pueden servir de antídoto en caso de intoxicación.

Los podemos encontrar en los encinos, nogal, castaño, bistorta, madroño, ulmaria, agrimonia y tormentila (Jorge, 2004; Villar, 1999; Jean, 1991; Chiereghin, 2000; Kukinskli, 2003; Cebrian, 2002; Anderson *et al.*, 2002; Tyler *et al.*, 1979; Daniel, 2006; Porter, 1989).

***Vitaminas;** las vitaminas A se pueden encontrar en el perejil, la zanahoria y las espinas, las vitaminas B, levaduras y cereales, la vitamina C los frutos de espino, en limones, perejil, pimentón, la vitamina D las podemos encontrar en el cacao, las vitaminas E las podemos encontrar en cereales, berros, lechuga, la vitamina K en alfalfa, espinacas, la vitamina P la podemos encontrar en limones, naranjas y garbanzos.

Las vitaminas son indispensables para el organismo el cual no es capaz de sintetizar las vitaminas y es indispensable que las tome de los organismos vegetales, las vitaminas son importantes ya que se necesitan para construir las sustancias del esqueleto (tejido conjuntivo, huesos y dientes) y las estructuras celulares, para proporcionar los elementos básicos de las enzimas corporales (fermentos) y las hormonas, para activar los procesos metabólicos y para influir sobre el metabolismo de los líquidos. Sin estos materiales la vida no es posible. (Pahlow, 1985; Schauenberg y Paris, 1980; Kukinskli, 2003; Anderson *et al.*, 2002; Tyler *et al.*, 1979).

4. 8 Factores Relacionados con la Producción de los Principios Activos

La cantidad de los principios activos depende especialmente de si son plantas cultivadas o espontáneas, posteriormente los factores ambientales con los que interactúa la planta; temperatura, humedad, radiación solar, factores topográficos y suelo (Ratera y Ratera, 1980; Villar, 1999).

***Plantas cultivadas y espontáneas:** las plantas medicinales cuando se intentan cultivar presentan claras ventajas sobre la flora espontánea; a) permite obtener una materia prima abundante, homogénea y de alta calidad mediante el cultivo de especies seleccionadas; b) permite controlar algunas de las variables que pueden afectar a la producción (selección de climas apropiados, aporte de nutrientes al suelo, control de plagas) y, por tanto, mejorar el rendimiento en principios activos; y c) permite la obtención de vegetales en igual estadio de desarrollo, lo que facilitara las labores de recolección, secado y extracción de principio activo.

Para poder llevar a cabo lo antes mencionado debemos conocer en su perfección los factores climáticos, atmosféricos, edáficos y topográficos ya que si estas condiciones no se llevan a cabo muchas plantas perderán efectividad en sus principios activos, o simplemente si las producen pero no con la misma intensidad que las produciría en su estado silvestre (Villar, 1999; Trease y Evans, 1987).

***Factores climáticos:** el clima condiciona en gran medida el establecimiento de un determinado tipo de cultivo en una región, ya que no sólo afecta al crecimiento y desarrollo de las plantas, sino que incide en la biosíntesis de sus principios activos. Se ha comprobado como las mismas plantas, cuando son cultivadas en zonas de diferentes climatologías, presentan distinta composición química, tanto en calidad como en cantidad (Villar, 1999; Trease y Evans, 1987).

***Temperatura:** la temperatura es un factor de mayor importancia en el control y desarrollo del metabolismo de las plantas, aunque cada especie ha llegado a adaptarse a su propio entorno natural; el problema se plantea a la hora de introducir una especie

nueva en una zona de climatología distinta, ya que puede carecer de los sistemas de defensa necesarios para hacer frente a temperaturas extremas (Villar, 1999; Trease y Evans, 1987).

***Humedad:** el grado de hidratación del suelo y de la atmósfera inciden directamente en el buen desarrollo de las plantas. El exceso y el defecto de agua en el suelo pueden ser factores limitantes para el crecimiento y el metabolismo de determinadas plantas medicinales.

Esta variable esta directamente relacionada con el régimen de lluvias de una determinada zona, tanto en lo que respecta a la cantidad como a su distribución a lo largo del año y con la capacidad que tenga el suelo para retener el agua (Villar, 1999).

***Radiación solar:** la luz es indispensable para las plantas verdes, pues es la que suministra la energía necesaria para que efectúe la síntesis clorofílica. Cada planta necesita una determinada cantidad de luz para alcanzar un buen desarrollo y para poder realizar sus funciones metabólicas (Trease y Evans, 1987; Villar, 1999; Bovey *et al.*, 1989).

***Factores topográficos:** los factores topográficos no pueden contemplarse de forma aislada sino teniendo en cuenta su influencia en el resto de las variables climáticas.

El relieve ejerce una influencia marcada sobre las condiciones térmicas originando climas locales especiales. La temperatura decrece regularmente con altitud a razón de 0.55°C por cada 100 m de elevación. Este gradiente altitudinal de temperatura es la causa principal de que existan distintos tipos de vegetación en las laderas de la montaña.

Por tanto, los caracteres topográficos son, en muchos casos, determinantes para la concentración de los metabolitos secundarios en las plantas medicinales (Villar, 1999).

***Suelo:** las características físicas y químicas de los suelos influyen de forma importante en la producción de los principios activos de las plantas medicinales (Villar, 1999; Trease y Evans, 1987).

a).-Características físicas: el suelo esta formado por un agregado de partículas de tamaños diferentes (textura) y por la asociación de estas partículas elementales en agregados (estructura). La textura y la estructura unidas a la composición química del suelo confieren a este otros caracteres como son: porosidad y grado de aireación, capacidad de retención de agua y temperatura. Estas características pueden afectar positiva o negativamente a la producción de ciertos metabolitos secundarios. Por ejemplo, un alto grado de humedad puede limitar la producción por los vegetales de productos cuya función sea precisamente actuar como reserva hídrica para ello, como es el caso de algunas plantas que crecen en suelos muy húmedos, que tienen un menor contenido de sustancias mucilaginosas (Villar, 1999; Trease y Evans, 1987).

b).-Características químicas: la composición química del suelo puede afectar no solo el desarrollo y, por tanto, a la composición química de los principios activos, sino también puede ser un factor que limite su crecimiento. El pH del suelo, que depende de

la composición del mismo, es una importante variable a tener en cuenta. Existen plantas preferentemente acidófilas y plantas que requieren suelos alcalinos para su desarrollo. También son importantes la riqueza en materia orgánica y el contenido de nutrientes minerales, características que pueden ser modificadas en los cultivos mediante la administración de abonos nitrogenados puede contribuir a un incremento tanto de la masa vegetal de algunos de sus metabolitos secundarios, como es el caso de los alcaloides (Villar, 1999).

4. 9 Obtención y manejo de las plantas medicinales

Los principios activos se obtienen de plantas medicinales, es por ello importante saber como y cuando recolectar la planta, como secarla y conservarla todo ello con el fin de poder obtener lo máximo en principios activos sin que estos modifiquen su naturaleza química, causando que la planta pierda toda eficacia medicinal (Villar, 1999; Kukinskli, 2003; Youngken, 1951; Tyler *et al.*, 1979; Trease y Evans, 1987; Flores 1997).

***Recolección;** la recolección es una parte importante de la producción de principios activos, y la cual depende de varios factores;

- 1) La madurez de la planta ya que se debe recolectar aquellas plantas que se vean vigorosas, jóvenes y sin marchitamiento.
- 2) La hora del día, es decir en el momento en que el sol este más fuerte ya que esa es la hora en que la planta estará realizando la fotosíntesis y por tanto habrá una mayor cantidad de principios activos.
- 3) La pluviosidad, que afecta al contenido de principios activos (efecto lavado) y que puede introducir problemas técnicos relacionados con la posterior desecación y conservación del extracto. Un alto grado de humedad en el material vegetal recolectado puede originar el crecimiento de hongos y bacterias, por ello deben recolectarse en un día seco.
- 4) En el momento de recolectar cada parte de la planta se deben llevar a cabo ciertos aspectos en cuanto a época del año ya que si se recogen en una época diferente a la establecida puede variar la concentración en principios activos;
 - a) Raíces y rizomas; deben recolectarse en otoño, cuando los procesos vegetativos han cesado.
 - b) Las cortezas; se deben recolectar en primavera, antes que comiencen los procesos vegetativos.
 - c) Las hojas y ramas; deben recolectarse cuando ocurre la época de floración, antes de la maduración de los frutos y semillas y cuando la fotosíntesis es mas activa, lo que generalmente ocurre cuando el sol es más fuerte.
 - d) Las flores serán recolectadas antes o casi en la época de polinización.
 - e) Los frutos pueden ser recolectados antes o después del periodo de maduración es decir, cuando están totalmente desarrollados pero no maduros.

f) Las semillas deben recolectarse cuando están completamente maduras (Villar, 1999; Kukinskli, 2003; Youngken, 1951; Tyler *et al.*, 1979; Trease y Evans, 1987; Flores 1997).

***Secado;** el secado del material vegetal elimina suficiente cantidad de humedad como para conservar la calidad del extracto y prevenir el enmohecimiento, la acción de las enzimas y de las bacterias, y alteraciones químicas. El secado fija los constituyentes y facilita la trituración y molienda. Existen varios métodos de secado entre los mas importantes podemos mencionar;

1) Secado al aire libre; todas las partes de la planta deben lavarse con agua posteriormente se colocaran sobre una superficie plana encima de un papel absorbente (no periódico ya que puede absorber la tinta y puede haber variaciones químicas dentro de la planta), deben dejarse secar previamente al sol durante unas horas. Luego la desecación se llevara acabo en un lugar ventilado y seco, con las plantas esparcidas, en ningún caso debe de combinarse dos plantas diferentes, por lo general basta con una semana de secado.

Con la desecación se elimina el agua, que comprende aproximadamente el 80% del peso de la planta fresca, la desecación se dará por terminada cuando las hojas dejen de estar húmedas al tacto y adquieran una consistencia rígida y se rompan al intentar doblarlas.

2) Secado con calor artificial; es un método muy aceptable, el cual requiere de diverso secadores, y el cual mantienen una temperatura constante y controlable entre 20 a 60°C dependiendo el órgano que se quiera desecar.

El secado artificial es más ventajoso que el secado al aire libre porque detiene la acción enzimática más rápidamente y puede secar una planta en cuestión de horas. Entre los secadores más importantes podemos mencionar;

a) Estufas de desecación; se trata de recipientes, generalmente metálicos, provistos de varias bandejas convenientemente separadas, de rejilla, para que circule bien el aire y sobre la que se dispone el vegetal.

b) Secadero de tolva; consiste en un recipiente dotado de un falso fondo o de tela metálica. Lleva un calentador por el que pasa aire impulsado por un ventilador y este aire caliente atraviesa el producto a desecar.

c) Estufa a vacío; consiste en una cámara hermética de vacío. Se utiliza para productos muy sensibles, ya que permite disminuir el tiempo de secado y por tanto impide la alteración de principios activos. Su principal inconveniente es el alto costo y sus mayores ventajas el mantener sus caracteres originales y la composición química original (Villar, 1999; Kukinskli, 2003; Youngken, 1951; Tyler *et al.*, 1979; Trease y Evans, 1987; Flores 1997).

***Conservación;** si la desecación se ha realizado correctamente, pueden las plantas utilizarse hasta el año siguiente. Debe buscarse un lugar fresco, seco y oscuro, con poca diferencia de temperatura, deben colocarse dentro de un recipiente de vidrio seco y limpio, con cierre hermético resultan efectivos los envases de color ámbar, pues evitan el paso de la luz. Además con ello evitamos el desarrollo de microorganismo, además

prevenimos la actuación de los insectos o roedores sobre nuestra planta (Villar, 1999; Kukinskli, 2003; Youngken, 1951; Tyler *et al.*, 1979; Trease y Evans, 1987; Flores 1997).

4. 10 Principales métodos extractivos del principio activo

Estos procedimientos se hacen en laboratorio y utilizan diferentes técnicas extractivas las cuales permiten nuevas formas de obtener el principio activo, presentando algunas ventajas (mejores condiciones de conservación, facilidad de empleo y prescripción, posibilidad de estandarización, aumento de biodisponibilidad, etc.) y algunos inconvenientes (peligro de dilución de principios activos, interacción con el disolvente, imposibilidad de obtener todos los componentes, etc.) Primeramente debemos seleccionar las partes del vegetal a extraer el principio activo: hojas, raíces, flores, semillas, corteza, hojas y ramas.

Posteriormente los metabolitos secundarios a extraer se encuentran disueltos en el citoplasma de la célula vegetal. Con el fin de facilitar la extracción de los mismos, la parte vegetal es sometida a un proceso de molturación o troceado que destruye las estructuras que los contienen, mejorando así el rendimiento de la extracción (Jorge, 2004). Entre los procesos extractivos más importantes tenemos:

***Decocción;** proceso por el cual la planta se hierve en agua durante un periodo de tiempo determinado. Se usa este procedimiento con las partes más duras, como corteza, hojas coriáceas, raíces y tallos (Alesón, 2004).

***Infusión;** es cuando el agua al primer hervor sin dejar hervir se le agrega la planta, se tapa y se deja reposar, se puede filtrar al enfriarse. Esta técnica se utiliza para partes tiernas de la plantas, como las flores y las hojas (Alesón, 2004; Luna, 2000).

***Maceración:** consiste en mantener la planta sumergida en un líquido (agua, vino, vinagre, etc.) a temperatura ambiente por un tiempo determinado, depende de la planta, este método permite la no eliminación de elementos útiles por el calor, se recomienda triturar la planta y se puede utilizar en cualquier parte de la planta (Lemus, 1998; De La Fuente *et al.*, 1998).

***Tinturas:** extracción elaborada a partir de una gran variedad de materias primas que son total o parcialmente solubles en alcohol. Dichas materias primas incluyen a toda la planta o parte de la planta. Se deja en reposo aproximadamente de una a dos semanas, no olvidando agitarla por lo menos dos veces al día. Posteriormente la extracción a través de la lixiviación de la materia prima se dejara pasar el líquido, para eliminar todas las impurezas, el líquido que obtenemos será la tintura (De La Fuente *et al.*, 1998; Ticli, 2005).

***Percolación;** es un método de extracción por medio del cual un material adecuadamente dividido y empacado propiamente en capas en un recipiente denominado percolador, es sometido a la acción de porciones frescas y sucesivas de un

disolvente, de tal modo que dicho líquido atraviesa las capas del material, impelido por su propio peso y separa los principios solubles (Mata, 2000).

***Extracción Mecánica:** es una técnica que permite obtener los principios activos disueltos en los fluidos propios de la planta, los cuales una vez extraídos se denominan jugo. La extracción mecánica se puede realizar:

*Por expresión: consiste en ejercer una presión sobre la planta.

*Con calor.

*Mediante incisiones por los que fluyen los fluidos de las plantas (Kukinskli, 2003).

***Destilación:** es el procedimiento por el cual se van separando o extrayendo los componentes de una mezcla líquida por vaporización de la misma. Con el calentamiento se desprenden primero los componentes más volátiles y luego va quedando un residuo líquido constituido por las sustancias de punto de ebullición más alto (Umland, 2000; Jorge, 2004).

4. 11 Métodos de evaluación de los componentes químicos de los principios activos

Desde hace algunos años las diferentes técnicas de separación y aislamiento de los componentes de las plantas han pasado a un primer plano como métodos de aplicación general más útiles en el estudio de sustancias orgánicas. Diversas técnicas de análisis químico se han utilizado para separar sustancias puras de mezclas complejas.

Estos ensayos son de tipo cualitativo que permiten la identificación de los extractos y el reconocimiento de la presencia de determinados compuestos específicos derivados del metabolismo secundario de una planta, al ser estos más concluyentes y más útiles para comparar los perfiles químicos y diferenciar entre las diferentes especies vegetales (Villar, 1999). Entre los procesos más importantes de evaluación de los principios activos tenemos:

***Cromatografía en columna:** la fase estacionaria está constituida por un sólido adsorbente que se empaqueta en una columna, normalmente de vidrio.

Los componentes a separar se añaden en forma soluble por la parte superior de la columna, quedando retenidos en la misma. Posteriormente los componentes se desplazan arrastrados por una fase móvil líquida. Dependiendo de la adsorción selectiva de cada uno de ellos por la fase estacionaria se desplazan a distintas velocidades, efectuándose la separación, se utiliza para separar compuestos como ácidos grasos, hidrocarburos, monoterpenos, sesquiterpenos y azufrados (Burriel *et al.*, 1998; Tyler *et al.*, 1979).

***Cromatografía en capa fina:** usa una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida o gaseosa. El soluto se adsorbe en la superficie de las partículas sólidas. Las mezclas que han de ser separadas se disuelven en un disolvente adecuado y se depositan en forma de una serie de manchas sobre la capa fina cerca de un lado de la placa; después, la parte correspondiente a este lado se sumerge en una mezcla de disolvente adecuado y el conjunto se dispone en una cámara hermética. El frente del disolvente recorre hacia arriba la capa fina y, transcurrido el tiempo conveniente, se extrae la placa de la cámara,

se señala el frente del disolvente, se deja evaporar éste y se determina por un medio adecuado las posiciones de los compuestos separados, se utiliza para separar componentes como lípidos, esteroides, carotenos, terpenos y quinonas simples (Freeman, 2001; Ayres, 1970; Tyler *et al.*, 1979).

***Cromatografía en papel:** el principio del método consiste en depositar sobre papel una pequeña cantidad de la solución problema. Posteriormente se hace fluir por el papel un disolvente fase móvil que provoca la separación de los componentes de la muestra. Es un método muy sencillo que permite separaciones que serían difíciles por otros procedimientos y que opera con pequeñas cantidades de muestra, se utiliza para separar constituyentes solubles al agua como carbohidratos, aminoácidos, ácidos nucleicos, ácidos orgánicos, bases orgánicas, y compuestos fenólicos (Faschka *et al.*, 1984; Villar 1999).

***Resonancia Magnética nuclear:** los espectros de RMN son una herramienta insustituible en el análisis cualitativo para determinar la estructura de las moléculas orgánicas, para ello se coloca una sustancia en un campo magnético intenso que afecta al espín de los núcleos atómicos de algunos isótopos de elementos comunes. Después se hace pasar a través de la sustancia una onda de radio que reorienta los núcleos. Cuando se desconecta la onda, los núcleos liberan un pulso de energía que proporciona información sobre la estructura molecular de la sustancia y que puede ser transformado en una imagen mediante técnicas informáticas (Pedrozo y Torrenegra, 2001).

***Espectrometría de masas:** permite obtener la masa molecular de una sustancia e información de sus características estructurales, con base en un patrón de fragmentación que es relativamente específico de cada sustancia; por medio de la comparación del espectro de masas con los almacenados en una base de datos, es posible identificar una sustancia (Pedrozo y Torrenegra, 2001).

***Espectroscopia de Infrarrojo:** la espectroscopia infrarroja se ha convertido en un instrumento indispensable como fuente de datos estructurales de sustancias orgánicas.

Este análisis se emplea para determinar la presencia o ausencia de grupos funcionales específicas en una mezcla de reacción. La información obtenida desde un espectro en el infrarrojo permite la identificación de los grupos funcionales presentes en las moléculas.

Los espectros de emisión se obtienen excitando adecuadamente una muestra de sustancia, para que emita radiación electromagnética, cuya intensidad se registra en función de su longitud de onda o de su frecuencia mediante un espectrógrafo. El espectrógrafo de emisión de una misma sustancia varía con el modo de excitación (llamas, arcos o chispas eléctricas, tubos de descargas eléctricas a través de gases, etc.) para obtener un espectro de absorción se ilumina una muestra de sustancia (en formas de capa) con radiación continua, como la emitida, por ejemplo, por un filamento incandescente, analizando, mediante un espectrógrafo, la porción de radiación absorbida por la muestra en función de su longitud de onda o de su frecuencia (Rubio y Segade, 1985).

4. 12 Parámetros de actividad antimicrobiana

***Antibiograma:** es una técnica estandarizada, en la que los resultados en cuanto a sensibilidad y resistencia se comportan paralelamente *in vitro* e *in vivo*, el antibiograma es un estudio de la sensibilidad del microorganismo, productor de una enfermedad, a los antimicrobianos. Estas pruebas investigan la actividad de distintos agentes quimioterápicos o bien extractos vegetales frente a los microorganismos; sirven para identificar al microorganismo y para implementar la terapia más efectiva (Thomas *et al.*, 1988; Sacsquispe y Velásquez, 2002).

a) Concentración inhibitoria mínima: en muchas infecciones, los resultados de las pruebas de sensibilidad son importantes en la elección del antibiótico. Es común reportar los resultados como la concentración inhibitoria mínima (CIM), que se define como la concentración mas baja del fármaco que inhibe la proliferación del microorganismo (Levinson y Ernest, 1992).

b) Concentración mínima letal: es la menor concentración menor de la sustancia antimicrobiana con la que no quedan microorganismos viables de una determinada cepa (Granados y Villaverde, 1998).

c) Resistencia: un microorganismo es resistente a un antimicrobiano cuando su sensibilidad es muy pequeña o nula. De forma que se necesita una elevada concentración del agente antimicrobiano para impedir su crecimiento (Granados y Villaverde, 1998).

4. 13 Efecto antimicrobiano

Una vez efectuada la identificación del microorganismo es necesario efectuar las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos, la cual consiste en inocular el microorganismo que se prueba en toda la superficie de una placa de medio de cultivo adecuado y colocar sobre la superficie de la placa a intervalos adecuados cierta cantidad de discos de papel filtro impregnados con diferentes antibacterianos. Entonces se incuba la placa, generalmente por una noche. Los antibacterianos se difunden desde los discos hacia el medio y la multiplicación bacteriana es inhibida en una zona circular alrededor de cualquier disco que contenga medicamento al cual sea sensible el microorganismo (Duerden, 1993). Para poder llevar estas pruebas a cabo, debemos utilizar tres métodos que son las más usuales y requeridas en este tipo de tratamientos;

***Técnica de Kirby-Bauer:** el método de difusión en placa determina la susceptibilidad al extracto utilizando discos de papel filtro impregnado con cantidades conocidas de los agentes antimicrobianos. Para ello se inocula una placa de Petri con una bacteria; los discos, impregnados con diferentes agentes antimicrobianos, se colocan en la superficie.

El extracto se difunde desde el disco a través del gel; de manera que las concentraciones mas altas se encuentran en las proximidades del disco y progresivamente van disminuyendo conforme nos alejamos del mismo (Ingraham, 1998).

***Escala de McFarland:** a través de la escala de McFarland se originara una turbidez debida a la reacción de ácido sulfúrico con cloruro de bario que forma un precipitado blanco de sulfato de bario.

Cuando el fino precipitado blanco de sulfato de bario se sacude, cada tubo posee una densidad diferente que corresponde aproximadamente a las suspensiones bacterianas del cuadro 1 (Lennette, 1991).

Tubo N°	Cloruro de bario 1% (mL)	Ácido sulfúrico 1% (mL)	Suspensión bacteriana por mL (X10 ⁸) UFC.
1	0.1	9.9	3
2	0.2	9.8	6
3	0.3	9.7	9
4	0.4	9.6	12
5	0.5	9.5	15
6	0.6	9.4	18
7	0.7	9.3	21
8	0.8	9.2	24
9	0.9	9.1	27
10	1	9	30

Cuadro 1 Escala de McFarland.

***Técnica de Barry:** siembra previa al vertido del medio en la placa. Para ello en el medio de cultivo previamente fundido (de 20 a 25 mL de medio a una temperatura de 40 a 50°C) en tubo, posteriormente se adiciona el inoculo, se homogeniza la muestra, en el tubo mediante el vibrador. Una vez constituida la muestra, se vierte esta en la caja Petri estéril y se deja solidificar. Esta técnica es utilizada, por ejemplo, para la determinación de la CMI (concentración mínima inhibitoria) de un antibiótico frente a determinados microorganismos (Granados y Villaverde, 1998).

4. 14 Pruebas de toxicidad de los principios activos

Muchas plantas son medicinales a cierta concentración, si esa concentración se aplica en una dosis mayor puede ser perjudicial para los seres vivos, muchas plantas presentan virtudes medicinales comprobables pero también están dotadas de propiedades toxicas y su dosificación es muy importante, pues todo abuso provoca intoxicaciones. Es por ello llevar a cabo diversos estudios sobre los efectos no deseados de los fármacos de origen vegetal. Estos efectos pueden ser los secundarios como alergias, urticarias, nauseas, vómitos, diarreas y hasta la muerte (Ades y Oliva, 2001).

***Toxicidad:** en un sentido general podría decirse que la toxicidad de una sustancia es su capacidad para causar una lesión en un organismo vivo. Una sustancia muy toxica causara daño a un organismo si se le administra en cantidades muy pequeñas; una sustancia de baja toxicidad solo producirá efecto cuando la cantidad sea muy grande.

Entre los animales ocupados para realizar las pruebas de toxicidad tenemos: Ratas, ratones, hámster, cuyos, perros, gatos y primates (no humanos) (Somers, 1985).

***Toxicidad Aguda:** la mayoría de los estudios están diseñados para determinar la dosis letal media (DL50) de la sustancia toxica. La DL50 se ha definido como “una expresión derivada estadísticamente de una dosis única de un material que se puede esperar aniquile 50% de los animales”. Además, tales estudios pueden indicar también el probable órgano objetivo del producto químico y su efecto toxico y ofrecer orientación en cuanto a la dosis que se utilizaran en los estudios mas prolongados.

Estos estudios se valoran a las 24 y 48 horas después de haberse administrado el fármaco, la vía de administración puede ser oral, dérmica, inhalatoria e intravenosa (Franck, 1992; Charles y Robert, 1984).

***Toxicidad subaguda:** en este tipo de experimentos se utilizan dos especies una de ellas que no sea de roedores, en el caso de roedores se utilizan 10 a 30 organismos en el caso de otro tipo de animal se utilizan de 4 a 8 organismos, se utiliza una misma dosis pero esta se aplica diariamente por un periodo de 30 a 90 días, la vía de administración puede ser oral, dérmica, inhalatoria e intravenosa (Franck, 1992; Charles y Robert, 1984).

***Toxicidad crónica:** por lo general se utiliza de una a dos especies animales o más. Se utilizan ratas, perros, gatos, cuyos y primates (no humanos). Debido al tamaño pequeño los ratones no son adecuados para realizar este tipo de toxicidad. Por lo general se utilizan de 40 a 100 ratas en cada grupo de dosificación, y se utilizan números mucho menores de perros y primates en cada grupo. En este caso se utilizan tres dosis diferentes, que se administraran a cada grupo de animales, por un periodo de 30 meses para ratas y en el caso de perros y primates por seis años o más, la vía de administración puede ser oral, dérmica, inhalatoria, e intravenosa (Franck, 1992; Charles y Robert, 1984).

***Bioensayos de microtécnicas de toxicidad:** en términos generales un bioensayo puede ser definido como cualquier prueba que involucra organismos vivos, a su vez se puede señalar como cualquier método por medio del cual alguna propiedad de una sustancia o material, es medida en términos de la respuesta biológica que produce. El principal objetivo de este tipo de análisis es evaluar el nivel de estímulo que es necesario para obtener una respuesta en un grupo de individuos de una población. Entre los bioensayos de microtécnicas de toxicidad se pueden utilizar los siguientes invertebrados: *Artemia salina* Leach, *lombricus terrestris* (Payrol *et al.*, 2001), larvas de mosquito como *Culex quinquefasciatus* (Perez *et al.*, 2004), *Daphnia magna*, y micro lombrices *Panagrellus redivivus*. Estudios publicados en décadas recientes, sugieren que un primer rastreo toxicológico pudiera llevarse a cabo con pruebas de toxicidad aguda empleando invertebrados, lo cual puede ser útil como un estudio preliminar en la evaluación de la toxicidad de nuevos y diferentes químicos en mamíferos. La mayor ventaja de aplicar estos bioensayos preliminares esta relacionada con la reducción del número de mamíferos que normalmente son requeridos en la determinación de la toxicidad aguda empleando ratas o ratones, además de ser, por lo mismo económico. El uso de micrométodos toxicológicos con invertebrados representa una reducción significativa en costo, tiempo, espacio y numero de mamíferos. En varios casos existe una correlación significativa entre las pruebas toxicológicas en invertebrados y mamíferos (Aoiki *et al.*, 2004).

4. 15 Características generales de los microorganismos patógenos utilizados en el trabajo

Durante muchos milenios de evolución, los seres humanos hemos desarrollado una relación íntima y compleja con el mundo de los microorganismos. Desde el nacimiento hasta la muerte, nuestro cuerpo es habitado por cientos de especies bacterianas y de hongos. Algunos hacen del cuerpo humano su hogar permanente, y otros residen en el solo temporalmente, aunque sean inocuos.

En realidad, la diferenciación no es tan clara, por que el estado de salud del hospedador es crítico para determinar si se producirá enfermedad o no (Ingraham, 1998).

Entre algunas bacterias y hongos causantes de diferentes tipos de enfermedades y utilizadas en el trabajo podemos mencionar;

Bacterias Patógenas

****Streptococcus β -hemolítico.***

-Características: bacteria grampositivo, formación de racimos y cadenas largas, no tiene motilidad y no forman esporas, son aerobias facultativas con metabolismo fermentativo (Burnett y Scherp, 1986).

-Enfermedad que causa en el ser humano: faringitis aguda, Hypoderma, escarlatina, erisipela o celulitis, fiebre reumática, endocarditis, valvulitis reumática y glomérulo nefritis aguda o crónica (Koneman, 1997).

****Streptococcus mutans.***

-Características: bacteria grampositivo, forma cocos en cadenas, sus colonias son grandes, convexas y mucoides ligeramente azules, de 0.5 a 1 μm , de diámetro, las cuales tiene márgenes ondulados y una estructura interna reminiscente característica finamente granular de aspecto de vidrio escarchado (Levinson y Ernest, 1992).

-Enfermedad que causa en el ser humano: con frecuencia se encuentra en la boca, nasofaringe, grietas gingivales, tracto gastrointestinal, tracto genital femenino y ocasionalmente la piel, provoca endocarditis y es uno de los agentes principales de la caries dental (Bailey, 1991; Zinsser, 1998).

****Staphylococcus aureus.***

-Características: bacteria grampositivo, es un coco móvil, de 0.8 μm ., de diámetro, pero las células viejas y los microorganismos fagocitados se tiñen como gramnegativos, es un patógeno común en el ser humano que se localiza principalmente en las mucosas y la piel (Lennette, 1991).

-Enfermedad que causa en el ser humano: mata las células fagocíticas, constriñe los músculos lisos, paraliza las paredes de los vasos sanguíneos, y es dermonecrotica (Carpenter, 1979).

****Corynebacterium xerosis.***

-Características: bacteria Grampositivo, aerobia, no producen endosporos, no son acidorresistentes y son móviles (Lennette, 1991).

-Enfermedad que causa en el ser humano: es una causa rara de infecciones humanas, incluye bacteriemia clínica, endocarditis, mediastinitis, neumonía y osteomielitis vertebral (Koneman, 1997).

****Enterococcus faecalis*.**

-Características: bacterias Grampositivo, los miembros típicos son bastones rectos, esporulados, de 2 a 6 micras de largo por 1 a 1.5 micras de ancho y son productores de ácido y gas, se encuentran en el tracto respiratorio alto y el intestino delgado, pero se encuentran en mayor proporción en el intestino grueso (Burnett y Scherp, 1986).

-Enfermedad que causa en el ser humano: es una causa rara de infecciones humanas, incluye bacteriemia clínica, endocarditis, infecciones de heridas eternas, mediastinitis, neumonía y osteomielitis vertebral (Koneman, 1997).

****Escherichia coli*.**

-Características: bacilo gramnegativo, con forma de bastón, móvil, anaerobio facultativo, capaz de crecer a 44°C, este organismo es muy adecuado para la investigación por su crecimiento rápido y su cultivo es muy sencillo (Cedric y Jhon, 1995; Stainer *et al.*, 1981).

Enfermedad que causa en el humano: se encuentra como habitante normal dentro del intestino humano, pero si penetra en el tracto urinario causa infección urinaria y causa gastroenteritis principalmente en personas con deficiencia higiénica (Ronald y Richard, 2002; Stuart, 2000).

****Mycobacterium phlei*.**

-Características: células compuestas por bacilos rectos o curvos, que también se ramifican y forman filamentos, grampositivas, desarrollo lento o rápido, son aerobios, no esporulados y no móviles (Lennette, 1991).

-Enfermedad que causa en el humano: no produce enfermedades pero ha sido muy empleada en estudios bioquímicos y genéticos debido a que prolifera con rapidez en medios simples y no constituye riesgo en el laboratorio (Zinsser, 1998).

Hongos Patógenos

****Cándida albicans*.**

-Características: las cándidas son levaduras, hongos que existen en forma unicelular, se considera miembro de la flora normal de las mucosas de la boca, a faringe, las fosas nasales y la vagina. Hay formas sexuadas y asexuadas. Se tratan de células ovoides (blastoporas), pequeñas (4-6 µm) y de pared delgada que se produce por brotación. Las candidas forman colonias lisas de color blanco cremoso y brillante (Gerald, 1997).

-Enfermedad que causa en el humano: Candidiasis en la cavidad oral, vaginal y tracto intestinal (Brock, 1978).

****Cándida tropicalis*.**

-Características: blastoconidios distribuidos espaciadamente a lo largo de las pseudohifas, sin cúmulos densos. Ausencia de clamidosporas, produce micelios y clamidosporas en raras ocasiones, pero nunca tubos germinales (Braude y Davis, 1984)

-Enfermedad que causa en el ser humano: puede causar vaginitis y onicomicosis (Zinsser, 1998).

****Cándida stellatoidea*.**

-Características: puede producir blastosporos, pseudohifas, tubos germinales y rara vez clamidosporos (Braude y Davis, 1984).

-Enfermedad que causa en el ser humano: vaginitis y onicomicosis (Zinsser, 1998).

****Cryptococcus neoformans*.**

-Características: microorganismo ovalado a esférico, de gemación única, de paredes gruesas y semejantes a una levadura de 5 a 15 μm de diámetro, rodeado por una capsula ancha, refrigerante, gelatinosa (Sydney y William, 1983).

-Enfermedad que causa en el ser humano: desde los pulmones las levaduras pueden producir metástasis en casi cualquier órgano del cuerpo, pero de preferencia invaden el sistema nervios central (Zinsser, 1998).

****Geotrichum sp.***

-Características: este hongo produce micelios tabicados y se reproducen de manera asexual por medio de conidios que no se hallan dentro de un estroma altamente especializado (Zinsser, 1998).

-Enfermedad que causa en el ser humano: produce geotricosis, afecta a la cavidad bucal y tracto gastrointestinal y respiratorio (Burnett y Scherp, 1986).

****Cándida krusei*.**

-Características: forma hifas verdaderas y clamidosporas, crece en 24 a 48 h., en forma de colonias de levadura de color blanco opaco cuando se cultiva a 37°C (Stuart 2000).

-Enfermedad que causa en el ser humano: endocarditis, vaginitis y en individuos débiles y diabéticos forma candidiasis (Koneman, 1997; Gonzáles y Cameros, 1996).

4. 16 Características generales de los encinos (*Quercus*)

***Los encinos (*Quercus*);** existen en todo el país varios tipos de encinares que difieren entre si en cuanto a sus especies dominantes, altura, fenología y otras características. Se pueden distinguir los dos tipos de encinares los árboles y arbustos, los dos tipos prácticamente son bajos en cuanto a tamaño pues miden de 5 a 12 m, y hay algunos de hasta 30 a 50 m, moderadamente son densos. Los bosques de *Quercus* que habitan áreas mas secas presentan a menudo hojas chicas, mientras que los encinares de climas húmedos abundan especies con hojas relativamente grandes de hojas duras y gruesas, Muchos pierden las hojas por un periodo de varias semanas, otros son perennifolios o subperennifolios y caducifolios (Rzedowski, 1994; Zavala, 1990; Sánchez, 1979).

Los encinares arbóreos son comunidades vegetales frecuentes de las zonas montañosas de México y constituyen la mayor parte de la cubierta vegetal de áreas de clima templado y semihúmedo.

No se limitan a estas condiciones ecológicas, pues también penetran en regiones de clima caliente, no faltan en las francamente húmedas y aun existen en las semiáridas, pero en estas últimas asumen con frecuencia la forma de matorrales, los podemos encontrar en todos los estados de la república, a excepción de Campeche, Yucatán y Quintana Roo (Figura 1).

Se calcula que los bosques de encino ocupan aproximadamente el 5.5% de la superficie del país. Estos bosques prosperan entre 1200 y 2800 m, en suelos profundos o someros, en lugares con precipitación promedio anual de 600 a 1200 mm.

Este tipo de vegetación se ha observado sobre diversas clases de roca madre, tanto ígneas, como sedimentarias y metamórficas, así como en suelos profundos de terrenos aluviales planos, no tolera, aparentemente deficiencias de drenaje, aunque puede crecer a orillas de arroyos en tierra permanentemente húmeda. Típicamente el suelo es de reacción ácida moderada (pH 5.5 a 6.5), con abundante hojarasca y materia orgánica en el horizonte superficial y a menudo también a mayor profundidad. La textura varía de arcilla a arena al igual que la coloración frecuentemente es roja, aunque puede ser amarilla, negra, café o gris (Rzedowski, 1994; Zavala, 1990; Sánchez, 1979).



Fig. 1.-Distribución geográfica del bosque de *Quercus* en México (Rzedowski, 1994).

***Importancia Ambiental de los Encinos;** controla la temperatura ambiental debido a que su follaje intercepta, absorbe y refleja la radiación solar abatiendo las temperaturas extremas de una localidad determinada. En otras palabras, en el interior de un bosque los cambios de temperatura son menos drásticos que en una zona desprovista de vegetación (Rzedowski, 1994; Zavala, 1990; Sánchez, 1979).

El follaje de los encinos amortigua el impacto de la lluvia y permite su escurrimiento por las ramas hacia el suelo, obligándola a derivar lentamente por las laderas e

introducirse en los perfiles interiores, para incorporarse después a las corrientes subterráneas que originan los manantiales (Rzedowski, 1994; Zavala, 1990; Sánchez, 1979).

Además de regular el ciclo hidrológico, liberan oxígeno al ambiente, proporcionan hábitat y alimento a la fauna silvestre, protegen al suelo de la erosión y favorecen su fertilidad ya sea por medio de la descomposición que sufren sus ramas, hojas y frutos, los que forman el mantillo que más tarde se convierte en rico suelo vegetal (Rzedowski, 1994; Zavala, 1990; Sánchez, 1979).

En las grandes ciudades ayudan a reducir la contaminación de aire ya que sus hojas absorben gases tóxicos e interceptan partículas de contaminantes sólidos (Niembro, 1990).

***Usos a nivel industrial de los Encinos (*Quercus*);** la gran dureza de los árboles le da su apreciación para la fabricación de muebles con su madera, que se utiliza para leña y carbón, durmientes, fabricación de muebles finos, artículos torneados, revestimientos, carrocerías, embarcaciones y carpintería en general.

La facultad que tienen los taninos de precipitar a las proteínas se utiliza en el proceso de curtido, por el cual la piel de los animales se convierte en cuero. El tanino no solamente afecta la flexibilidad y resistencia del cuero, sino que lo preserva debido a sus propiedades antisépticas.

El ácido tánico además es empleado en la fabricación de tintas y para clarificar bebidas alcohólicas, como cerveza y vinos. La dosis máxima permitida como saborizante en alimentos es de 0.018% (Niembro, 1990; Leung y Foster, 1996; Ceballos y Fernández, 1980).

***Usos medicinales de los Encinos (*Quercus*);** la decocción de la corteza y las hojas de los encinos son muy empleadas como descongestionante del sistema bucofaríngeo (en forma de gárgaras), así también como astringente y hemostático (en forma de apósitos y compresas) en caso de hemorroides, heridas, úlceras dérmicas etc.

Las duchas vaginales se recomiendan en caso de vaginitis y leucorreas. Los supositorios hechos con extractos de corteza de encino se emplean en caso de hemorroides. También resulta útil la corteza en forma de baño en presencia excesiva de transpiración de los pies.

Frente a cuadros diarreicos se suele beber la infusión, a razón de 2-3 tazas al día. El polvo de corteza se suele aspirar para tratar pólipos nasales o se suele esparcir sobre heridas de difícil cicatrización.

Otro de los usos más actuales que se le han dado a los *Quercus sp.*, son los relacionados con la boca entre los que podemos mencionar, en un cocimiento de la corteza de diferentes especies de este género en buches o mascado sirve para afianzar los dientes, combate el dolor de muelas, sangrado de encías y aflojadura de dientes; en caso de

heridas, la cocción se emplea para lavar la zona afectada (Linares y Bye 1999; Aguilar 2001; Blumenthal *et al.*, 2000).

Origen: A nivel mundial se conocen de 300 a 400 especies de *Quercus*, siendo que en México se encuentran entre 150 y 200 especies y de las cuales 86 especies son endémicas (es decir solo se encuentran en nuestro país). Antes de la llegada de los españoles, México contaba con una gran riqueza de bosques de encinares las cuales se extendían hasta cubrir gran parte del territorio nacional. Desde el arribo de los conquistadores y hasta el siglo XVIII, México tenía prohibido el comercio entre las colonias del continente Americano, con objeto de evitar la competencia con las mercancías que se producían aquí y en Europa. Entre los años 1510 y 1541, los españoles expidieron el primer ordenamiento forestal, el cual consistió en eliminar gran parte de los bosques y reforestar con plantas Europeas entre ellas nuevas especies de encinos, ello con el fin de la explotación forestal derivada en el uso preferente de la madera.

Características Botánicas de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland

Reino: Vegetal.

Phyllum: Angiospermas.

Subphyllum: Dicotiledóneas.

Orden: Fagales.

Familia: Fagáceas.

Genero: *Quercus*.

Especie: *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland

Nombre común: Encino, roble, encino chimeco

Nombré Náhuatl del encino: Thiahta.

Sinónimos: *Quercus atriglans* Warb. (Luna *et al.*, 2003; Cronquist, 1981).

Árbol hasta de 15 o 20 m de altura; tronco con un diámetro de 50 a 60 cm, a veces algo más grueso, ramillas de 1.5 a 3 mm de diámetro, tomentosas al principio, después glabrescentes; estipulas de 6 a 12 mm de largo, escariosas, densamente pilosas, subuladas, algo persistentes; hojas con el pecíolo de 7 a 12 mm de largo, pubescente, limbo no muy grueso y poco coriáceo, plano, ruguloso, obovado, elíptico, de 5 a 20 cm de largo por 2 a 11 cm de ancho, ápice obtuso o redondeado, margen algo engrosado y ligeramente revoluto, subentero o sinuado-dentado en la parte distal de la hoja con 5 a 8 dientes u ondulaciones, terminados en una especie de mucrón que es más ancho que largo y algo incurvado hacia abajo, base del limbo redondeada o subcordada, venas laterales 8 a 12 pares, haz lustroso, tomen toso cerca de la base, envés pubescente con pelos glandulares, epidermis glauco-cerosa y papilosa, algo ampulosa; amentos masculinos de 3 a 5 cm de largo, pilosos y glandulares; flores femeninas 1 a 5 en un pedúnculo pubescente de 1 a 5 cm de largo; frutos 1 a 3 en el extremo de un pedúnculo hasta de 6cm de largo, cúpula hemisférica de 15 a 25 mm de diámetro con las escamas cubiertas de tomento gris, bellota ovoide de 17 a 20 mm de largo por 15 a 18mm de diámetro, incluida un tercio de su largo en la cúpula (Figuras 2 y 3). Abunda en las laderas de los cerros del Valle, formando parte de los bosques de encino, de pino y encino y en algunos sitios con matorral y pastizal, altitudinalmente se distribuye entre 2300 y 2900 m. (Valencia, 1995; Rzedowski 1979; Vázquez, 1992; Zavala, 2003).



Fig. 2.- *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland (Herbario Neotropical, 2005).

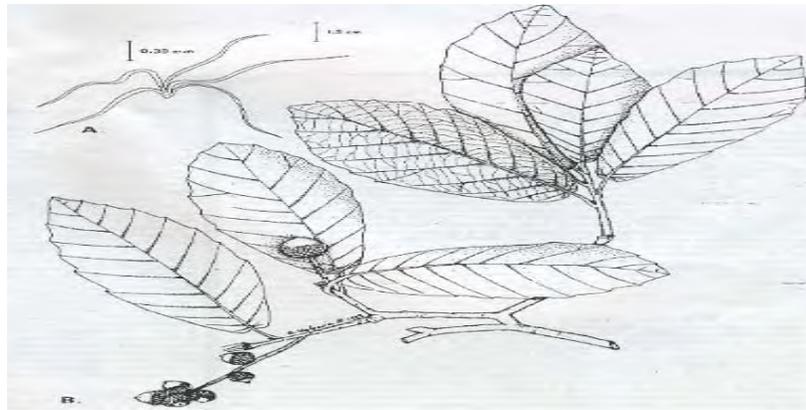


Fig. 3.- *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland (Zavala, 2003).

Distribución: En México comprende Distrito federal, Durango, Estado de México, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luís Potosí, Tlaxcala, Veracruz y Zacatecas (Figura 4) (Valencia, 1995; Rzedowski, 1979; Luna *et al.*, 2003; Vázquez, 1992; Zavala, 2003).



Fig. 4.-Distribución geográfica de la especie *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland en México (Valencia, 1995; Rzedowski, 1979; Luna *et al.*, 2003; Vázquez, 1992; Zavala, 2003).

Usos medicinales de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland: Inflamación y sangrado de encías, dolor de garganta y muelas, dientes flojos, estomatitis, hepatitis, úlceras bucales, gingivitis, gastritis, dolor de estómago, diarrea, disentería, hemorragias intestinales, cáncer de estómago, e intestinos, inflamación intestinal, heridas, granos quemaduras, llagas, infección de la piel, caída de cabello (Luna *et al.*, 2003; Samano, 1998).

V. ZONA DE MUESTREO

La zona de muestreo se encuentra localizada en el Estado de México, municipio de Amecameca de Juárez, en el poblado San Antonio Tlaltecahuacan. Con las coordenadas geográficas Longitud N: $19^{\circ} 33' 19.6''$. Longitud O: $99^{\circ} 8' 25.1''$ y una altitud de 2459 m (Figura 5).

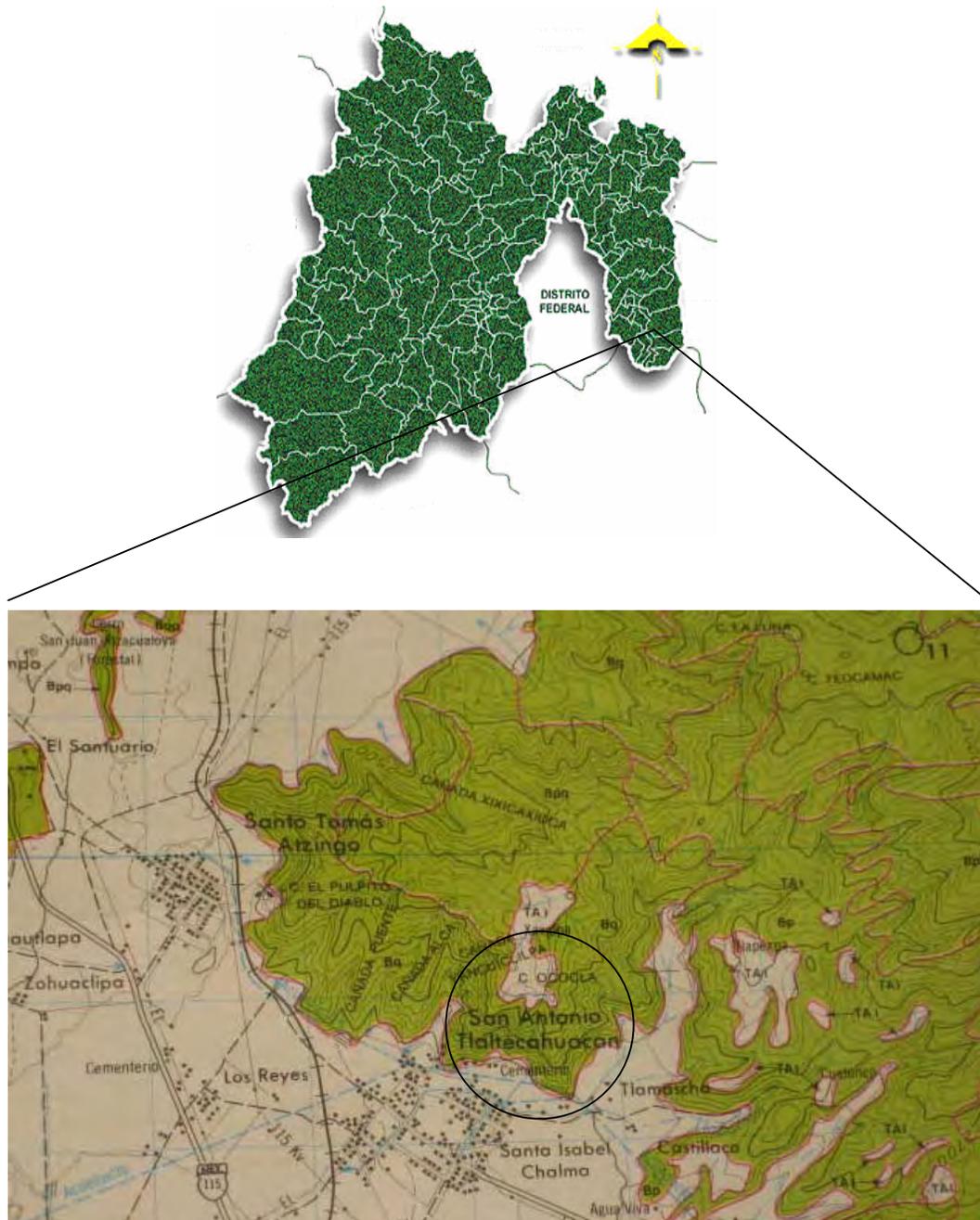


Fig. 5.- Mapa de ubicación de la zona de muestreo en San Antonio Tlaltecahuacan (Gobierno del Estado de México, 2004; INEGI, 2001).

5.1 Tipos de vegetación

Los elementos predominantes de la vegetación que encontramos dentro de la zona de estudio son algunas especies de *Quercus* como *Quercus rugosa*, *Quercus crassipes*, *Quercus glabrescens*, *Quercus laurina*, *Quercus sp*, *Quercus candicans*, *Quercus castanea*, *Quercus laeta*, *Quercus obtusa*, *Quercus microphylla*, *Quercus obtusata*, *Quercus conglomerata*. Entre las especies de *Pinus* tenemos *Pinus montezumae*, *Pinus lelophylla*, *Pinus hartwegii*, *Pinus sp*, *Pinus teocchie*. Entre las especies de *Arbutus* podemos encontrar *Arbutus glandulosa*, *Arbutus xalapensis*. Entre las especies de *Abies* nos encontramos con *Abies religiosa*. Entre los *Alnus* tenemos *Alnus firmifolia*. Entre los *Cupressus* observamos *Cupressus lindleyi*. Entre los estratos arbustivos tenemos *Bouvardia ternifolia*, *Verbesina virgata*, *Baccharis conferta*, *Senecio cinerarioides*, *Senecio bellidifolius*, *Garrya laurifolia*, *Salvia cardinales*, *Senecio cinerarioides*, *Satureja macrostema*, *Garrya laurifolia*, *Senecio sanguisarbae*, *Fuchsia microphylla*, *Salvia elegans*, *Lupinus mantanus*, *Mannina xalapensis*, *Senecio angulifolius*, *Fuchsia thymifolia*, *Valeriana subincisa*, *Salix paradoxa*, *Stevia rhombifolia*, *Cornus disciflora*, *Buddleja microphylla*, *Calliandra grandiflora*, *Eryngium pectinatum*, *Philadelphus mexicanus*, *Eupatorium deltoideum*. Estratos herbáceos tenemos *Trisetum spicatum*, *Stipa ichu*, *Senecio angulifolius*, *trisetum rosei*, *Geranium potentillaefolium*, *Stipa virescens*, *Muhlenbergia macroura*, *Pteridium aquilinum*, *Festuca tolucensis*, *Bromas lacinatus*, *Adiantum poiretti*. En pastizales se cuenta con *Stipa ichu*, *Muhlenbergia longiligula* (Gobierno del Estado de México, 2004; INEGI 1983).

5.2 Fauna

Es notable la presencia de una especie que vive en esta zona, el conejo de los volcanes o teporingo (*Romerolagus diazi*); otros animales son: la musaraña (*Criptotis alticola*), conejos y liebres (*Sylvilagus florinadus*), ardillas (*Sciurus nelsoni*), coyote (*Canis latrans*), armadillo (*Dasipus novemcintus*).

Entre los reptiles está la víbora de cascabel (*Crotalus triseriatus*), lagartijas y tizincoyotes. En cuanto a aves, tenemos: gavilancillo (*Falco sparverius*), águilas, correcaminos, codorniz, lechuza, búho, cuervo, zenzontle, jilguero, calandria, gorrión, azulejo, tórtola, coquito, chillón, tigrillo, primavera, carpintero, colibrí, chochoyota, seseto, cardenal, cacaxtle, tordo y mulato. Dentro de los insectos hay araña capulina, araña tigre, alacrán, catarinas, mosquitos y gusanos (Gobierno del Estado de México, 2004)

5.3 Clima

Es templado subhúmedo cb(w2) con régimen de lluvias de mayo a octubre.

La temperatura media anual es de 14.1°C; el mes más frío es enero con 2.4° promedio, pero en febrero o diciembre la temperatura puede descender hasta -8°. El mes más caluroso es abril con 24° en promedio. La precipitación anual es de 935.6 milímetros, febrero es el mes más seco (6.2 mm), seguido por diciembre (6.5 mm) y marzo (7.0

mm). Julio es el más lluvioso (341 mm), le sigue agosto (338 mm) y junio (321.4 mm) (Gobierno del Estado de México, 2004).

5.4 Hidrografía

La totalidad de los ríos, arroyos y manantiales de este municipio se alimentan por los escurrimientos de la Sierra Nevada. La red hidrológica cubre toda la zona gracias al deshielo permanente de los volcanes. En la época de lluvias aumentan considerablemente los escurrimientos y se forman innumerables arroyos y riachuelos; asimismo, el caudal de los ríos es mayor (Gobierno del Estado de México, 2004).

5.5 Suelo

En la región ocupada por los volcanes Iztaccihuatl y Popocatepetl el material parental de los suelos está formado por cenizas volcánicas y pómez (tefras) de diferentes edades, lo que ejerce un efecto sobre el desarrollo del tipo de suelo de origen andosol que ocupa grandes superficies.

La mayoría de esta superficie se ha dedicado a la agricultura y a la ganadería. También el renglón de erosión y tierras improductivas se ha elevado sensiblemente, lo que hace suponer que la pérdida de bosques se traduce en pérdida de suelo cultivable. Por otro lado la superficie agrícola y ganadera se ha visto afectada igualmente por el crecimiento urbano de la cabecera y sus delegaciones (Gobierno del Estado de México, 2004; INEGI, 1982).

VI. HIPÓTESIS

*Debido al uso medicinal tradicional que la gente le ha dado al encino se espera que el extracto de corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland., tenga mayor efecto inhibitorio que el extracto de hoja y rama, sobre la mayoría de los microorganismos a estudiar.

*Se espera que la concentración mínima inhibitoria del extracto de corteza no presente toxicidad, frente a *Artemia salina* Leach.

VII. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto inhibitorio del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland, sobre algunos microorganismos patógenos, así como el efecto tóxico sobre *Artemia salina* Leach.

VIII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

*Determinar las propiedades físicas (Densidad aparente, Densidad real, Espacio poroso, textura y Porcentaje de humedad) y químicas (pH real, pH potencial y Materia orgánica) del suelo donde crece el encino *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland.

*Evaluar en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL, de corteza, hoja y rama, la acción inhibitoria del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland, sobre los siguientes microorganismos patógenos del humano; Bacterias: *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei* y los Hongos: *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida stellatoidea*, *Cryptococcus neoformans*, *Geotrichum sp*, *Cándida krusei*, para encontrar la concentración mínima inhibitoria.

*Identificar que parte del extracto del encino ya sea de corteza, ramas u hojas, tiene mayor efecto inhibitorio sobre los diversos agentes patógenos.

*Evaluar la toxicidad de la concentración mínima inhibitoria del extracto de cada parte del encino (hoja, corteza y rama), sobre crustáceos de *Artemia salina* Leach.

*Realizar un análisis químico cualitativo del extracto de cada parte del encino (hoja, corteza y rama), mediante espectroscopia de infrarrojo.

IX. DISEÑO METODOLÓGICO

Metodología

El trabajo se dividió en tres fases; fase de campo, fase de laboratorio y fase de gabinete.

9.1 Fase de gabinete

Se realizó la investigación bibliográfica sobre los temas relacionados a la investigación (características generales de los encinos, técnicas a seguir en cuanto a sensibilidad microbiana, características sobre los microorganismos patógenos, técnicas de bioensayos de microtoxicidad sobre *Artemia salina* Leach, métodos de extracción y evaluación de los componentes químicos y técnicas para realizar las pruebas físicas y químicas del suelo donde creció el encino), además con el uso de la cartografía sobre la zona de estudio, la obtención y análisis de resultados, se realizó el documento final.

9.2 Fase de campo

*El sitio de muestreo se ubicó geográficamente entre las coordenadas Longitud N: 19°33'19.6". Longitud O: 99°8'25.1" y una altitud de 2459 m., en el Estado de México, municipio de Amecameca de Juárez, en el poblado San Antonio Tlaltecahuacan (figura 5).

Muestreo del suelo:

*Se tomó una muestra de suelo en forma compuesta para conocer las características físicas y químicas del suelo donde creció el encino, la cual se realizó en un área de aproximadamente 10 X 10m donde se tomaron 10 submuestras de diferentes puntos con una distancia de 1 metro entre ellas, con la finalidad de obtener una muestra compuesta de aproximadamente 1 kilogramo, a una profundidad de 0 a 30 cm (Jackson, 1976).

Muestreo vegetal:

*Se hizo la colecta vegetal de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland; colectando una parte del encino completa (hojas, ramas y bellotas), para su herborización y posterior identificación que con el apoyo del personal del herbario de la FES Zaragoza se determinó taxonómicamente el ejemplar prensado utilizando claves fanerogámicas (Sánchez, 1979; Rzedowski, 1979; Valencia, 1995; Zavala 2003; Laguerene, 1981).

*Para la elaboración de la extracción del extracto, se colectaron diversas partes del encino (corteza, hojas y ramas), las cuales se guardaron en bolsas de papel estraza, esto con el fin de no alterar su humedad y temperatura, y que con ello, no exista la posibilidad de formación de hongos (Martín, 1995).

9.3 Fase de Laboratorio

Preparación de las muestras de suelo:

*Las muestras de suelo fueron transportada al laboratorio para determinar las propiedades físicas y químicas del suelo que se mencionan en el cuadro 2;

PRUEBA	MÉTODO
Porcentaje de Humedad	Gravimétrico (Robert y Frederick, 1980; Reyes, 1996).
pH Real	Potenciómetro (Robert y Frederick, 1980; Reyes, 1996).
pH Potencial	Potenciómetro (Jackson, 1976).
Densidad aparente	Probeta (Robert y Frederick, 1980; Reyes, 1996).
Densidad real	Método del picnómetro (Robert y Frederick, 1980; Reyes, 1996).
Espacio poroso	Por medio de la Densidad Aparente y Densidad Real (Robert y Frederick 1980; Reyes, 1996).
Materia orgánica	Walkley y Black (Robert y Frederick, 1980; Reyes, 1996).
Textura	Hidrómetro de Bouyoucos (Robert y Frederick, 1980; Reyes, 1996).

Cuadro 2 Métodos para realizar las determinaciones de las propiedades físicas y químicas del suelo donde crece el encino *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland.

*El material de cristalería se esterilizó en la autoclave a 120 libras de presión por 20 minutos (Delaat, 1985).

Preparación y desinfección de la planta:

*El material vegetal colectado se separó en sus diferentes estructuras, ramas, hojas y corteza, la cual se desinfectó superficialmente con una solución de hipoclorito de sodio al 2% dejándola en esa solución durante 5 minutos, posteriormente se enjuago con agua destilada aproximadamente cinco veces (Acosta, 2002).

*Posteriormente las partes del encino ya separadas y desinfectadas se colocaron sobre papel estraza y se dejaron secar durante 5 días a temperatura ambiente (Arteche, 1998).

Elaboración de la tintura:

*La extracción hidroalcohólica (Tintura) se realizó de acuerdo a lo descrito por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; Los frascos para la obtención del extracto fueron de boca ancha, color ámbar y de tapas no metálicas, el alcohol empleado fue del 96° no desnaturalizado.

*Tanto hojas, ramas y corteza, se pesaron en una balanza granataria, posteriormente se colocaran dentro de los frascos color ámbar y se le agrego el alcohol hasta tapar por completo a cada una de las partes del encino (se midió el alcohol utilizado), se taparon, y se etiquetaron con los siguientes datos (nombre científico del encino, parte de la

planta a extraer y fecha de elaboración) y se guardaron en un lugar oscuro, esto para evitar que la luz no descomponga o modifique la composición química de algunos fotosintatos, así como la pérdida de extracto. Se dejaron ahí a temperatura ambiente, durante 14 días no olvidando agitar una vez al día los frascos (De la Fuente *et al.*, 1998).

*Después de los 14 días se continuó con una filtración utilizando papel filtro estéril, el liquido se guardo en otro frasco igual de color ámbar y se volvió a etiquetar (Villar, 1999).

Obtención del extracto seco y preparación de las concentraciones del extracto:

*Para la obtención del extracto seco se evaporó el alcohol mediante el rotavapor, utilizando una canastilla de calentamiento a 60°C a una presión de vacío de 10^{-4} bares, para posteriormente pesarlo en una balanza analítica (Redmore, 1981).

*Las diferentes concentraciones del extracto de cada parte del encino, se prepararon pesando en la balanza analítica 120, 250 y 500 mg de extracto, posteriormente se le añadió 1 mL de alcohol a cada concentración y se disolvió, por ultimo se guardo en viales estériles de color ámbar, en un lugar oscuro y a temperatura ambiente.

Preparación de los sensidiscos:

*La preparación de los sensidiscos se realizó conforme a los siguientes pasos: con ayuda de una perforadora, se perforo papel filtro Whatman N° 41 de tamaño estandarizado de 0.6 mm, y posteriormente se colocaran en un tubo de ensaye y se esterilizaron.

*Se colocaron los sensidiscos sobre una caja petri y se les añadió las diferentes concentraciones del extracto previamente preparado, impregnando de manera homogénea a cada sensidisco, teniendo una como testigo, la cual solo se le añadió alcohol (Levinson y Ernest, 1992).

Diseño experimental:

*El diseño experimental constó de 5 tratamientos 10 repeticiones y 13 cepas de microorganismos: los cinco tratamientos corresponden a las concentraciones de los extractos y testigos, la cual quedara indicada como T1=120 mg/mL, T2=250 mg/mL, T3=500 mg/mL, T4=Testigo absoluto (solo sensidisco) y T5=Testigo cero (impregnado de alcohol), se realizaran 10 repeticiones, para cada microorganismo.

*Los medios de cultivo que se utilizaron en el proyecto fue Agar Mueller Hinton para bacterias y Agar dextrosa Sabouraud para hongos (Bailón *et al.*, 2005; Delaat, 1985).

*Las cepas ocupadas fueron donadas por el cepario de la FES Zaragoza las cuales se mencionan en el cuadro 3:

Microorganismos	
Hongos	Bacterias
<i>Cándida albicans</i>	<i>Streptococcus β-hemolítico</i>
<i>Cándida tropicalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Cándida stellatoidea</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Corynebacterium xerosis</i>
<i>Geotrichum sp</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>Cándida krusei</i>	<i>Escherichia coli</i>
	<i>Mycobacterium phlei</i>

Cuadro 3 Microorganismos empleados en el experimento.

Escala de Mc Farland y Técnica de Barry:

*Se transfirieron colonias de bacterias y hongos con ayuda del asa bacteriológica, a un tubo preparado previamente con 1 mL de solución salina (NaCl 0.1%), para igualar la turbidez del tubo uno de la escala de Mc Farland el cual nos indica que ahí se encuentran 3×10^8 UFC (Unidad formadora de células), siendo este el inóculo.

*Los medios de cultivo para hongos o bacterias se esterilizaron en la autoclave a 120 libras por 20 minutos, luego se vertieron aproximadamente 15 mL en las cajas petri, las cuales se dejaron enfriar y se agregó el inóculo en el medio de cultivo, se homogenizo y se dejó solidificar (Granados y Villaverde, 1998; Bailón *et al.*, 2005).

Técnica de Kirby-Bauer:

*Se colocaron los sensidiscos presionándolos con unas pinzas estériles sobre la superficie del medio de cultivo en cada caja Petri inoculada, estos sensidiscos estaban impregnados con las diferentes concentraciones del extracto 120, 250 y 500 mg/mL, así como los testigos cero (sensidisco impregnado con alcohol de 96°) y absoluto (solo sensidisco).

*Por último se cerraron las cajas Petri con papel autoaderible, se invirtieron las cajas y se incubaron en la estufa, a una temperatura de 28°C por 24 horas para bacterias y 48 horas para hongos (Ingraham, 1998).

*Después del tiempo determinado de incubación de las cajas Petri con los microorganismos, se midieron con una regla Vernier los halos de inhibición tanto de hongos como de bacterias (Levinson y Ernest, 1992).

Análisis Estadístico:

*A los resultados obtenidos de los halos de inhibición se les aplicó un análisis estadístico, se realizó una ANDEVA (análisis de varianza) y se utilizó la prueba de Tukey, la cual compara las medias de los diferentes tratamientos, haciendo un análisis múltiple, en un nivel de confiabilidad del 95%, para ello se utilizó el programa estadístico StatGraphic (Reyes, 1982; Cervantes *et al.*, 2006).

Pruebas de toxicidad:

*En el ensayo de toxicidad se utilizó el crustáceo *Artemia salina* Leach, la cual consistió en preparar una solución salina acuosa al 3% utilizando sal de mar. Se tomaron 90 mL de esta solución y se vertieron en un frasco estéril, posteriormente se colocaron 100 *Artemias*.

*En otro vial estéril se colocó la concentración mínima inhibitoria del extracto seco de cada parte del encino, y se le agregó 10 mL de agua destilada, se agito hasta que se homogenizo esta solución, y se procedió a agregarlo en el frasco con las *Artemias*. Se realizaron 5 repeticiones para cada concentración mínima inhibitoria de cada estructura incluyendo la del testigo, en la cual solo se agrego la solución salina y las *Artemias*.

*Se corroboraron resultados a las 24 horas y 48 horas, anotando la posible muerte de las *Artemias*.

*Se determinó la concentración letal media (CL50), mediante el porcentaje de mortandad después de las 48 horas (ecuación 1) (Mata, 2000; Payrol *et al.*, 2001; Castro, 2004; Martínez, 2004).

$$\%M = \frac{\text{Artemias muertas en el extracto}}{\text{Artemias vivas en el blanco}} * 100$$

Ecuación 1. Porcentaje de mortandad

Pruebas de Espectroscopia de Infrarrojo:

Para esta prueba se utilizó el espectrofotómetro infrarrojo con Transformadora de Fourier (FTIR), de la marca Perkin Elmer, modelo 1600 del laboratorio de espectroscopia de la FES Zaragoza, en el cual obtuvimos un espectro del extracto de cada estructura del encino hoja, corteza y rama. El cual fue interpretado con ayuda de las tablas de referencia de las longitudes de onda a la cual se presentan las bandas de los diferentes grupos funcionales que componen a los espectros (Simón y Clero, 1970; Rubio y Segade, 1985).

X. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

10.1 Resultados de las propiedades físicas y químicas del suelo

PRUEBA	RESULTADO
pH Real (acuoso)	5.8
pH Potencial (KCl)	5.4
Porcentaje de Materia orgánica	7
Densidad aparente (g/cc)	1
Densidad real (g/cc)	2.2
Porcentaje de Espacio poroso	59
Porcentaje de humedad	35
Clasificación Textural	Franco arenoso
Porcentaje de arena	58
Porcentaje de limo	25.3
Porcentaje de arcilla	16.7

Cuadro 4 Resultados de las propiedades físicas y químicas del suelo donde crece *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

El cuadro cuatro muestra los valores de pH real que son de 5.8 y el potencial de 5.4, lo que indica que son suelos moderadamente ácidos, según la norma oficial mexicana para suelos (NOM-021-RECNAT-2000), similar a los pH donde crecen los encinos, los cuales son suelos de reacción ácido moderada (pH 5.5 a 6.5), ello indica un alto contenido de materia orgánica, no hay deficiencia de hierro y aluminio (Siebe *et al.*, 1996; Rzedowski, 1994).

La materia orgánica fue de 7% lo cual le corresponde un nivel medio alto por lo tanto es un suelo de origen volcánico; además se infiere que el suelo tendrá constantemente nutrimentos, mantendrá la humedad, el pH será moderadamente ácido, reducirá la pérdida de agua por evaporación y gracias a su capacidad de absorción y retención de agua se reducirá la erosión (Duchaufour *et al.*, 1978; Siebe *et al.*, 1996; NOM-021-RECNAT-2000).

La porosidad presente en este tipo de suelos es muy alta y junto a la densidad aparente de 1 g/cm³, podemos decir que el suelo es de textura media, este tipo de suelos no son cultivables, además a una textura fina le corresponde un volumen de poros más grande. Por lo mismo, a estructura mas fina menor densidad aparente, por ello al tener un porcentaje de espacio poroso del 59% el suelo posee una mayor retención de humedad, mayor aireación y el drenaje será mas rápido, esto quiere decir que el crecimiento radicular no tendrá resistencia y podrá crecer rápidamente, en cuanto a la densidad real obtenida fue baja 2.2 g/cm³, debido principalmente a los niveles altos de materia orgánica (7%), los carbonatos del suelo disminuyen y en este suelo podemos encontrar cuarzo, silicatos importantes como ortoclasa, plagioclasa y moscovita (Duchaufour *et al.*, 1978; Siebe *et al.*, 1996).

El porcentaje de humedad es del 35% lo cual indica que es un suelo arenoso y muy poroso el agua se desplaza rápidamente, pero debido a la materia orgánica, este suelo mantiene la humedad constante (Hodgson, 1987).

Se sabe que los encinos no toleran deficiencia de drenaje, aunque pueden crecer a orillas de arroyos en tierra permanentemente húmeda, y con abundante materia orgánica, la cual es muy importante en el crecimiento del encino así como en la producción de principios activos (Foth y Turk, 1980; Thompson, 1978; Rzedowski, 1994).

Finalmente la textura del suelo es de un 58% de arena, 25.3% de limo y 16.7% de arcilla, con ello se puede decir que se trata de un suelo Franco arenoso, el cual tiene como características una buena aireación, y drenaje ya que el agua se infiltra mejor en este tipo de suelos, con ello al observar un mayor porcentaje en la arena se puede decir que la roca madre es de textura gruesa, características generales de los suelos forestales de los encinos, ya que ellos crecen en suelos arenosos profundos y gruesos (Pritchett, 1990; Thompson, 1978; Foth y Turk, 1980).

10.2 Resultado del rendimiento del extracto

En el cuadro 5 se muestran los resultados del porcentaje de rendimiento obtenido de los extractos en peso seco, a partir de la tintura vegetal del encino *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland, de cada una de sus estructuras.

Estructura	Peso de la estructura (g)	Cantidad de tintura (mL)	Peso extraído de extracto (g)	Porcentaje de rendimiento del extracto seco
Rama	1200	1900	20.2	1.6
Corteza	994	1600	39.6	3.9
Hoja	1212	2900	30.7	2.5

Cuadro 5 Porcentaje de rendimiento del extracto seco de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland en cada una de sus estructuras.

El mayor porcentaje de rendimiento de extracto se obtuvo en la corteza (3.9%); seguida de la hoja (2.5%) y por último la rama (1.6%).

El porcentaje de rendimiento del extracto permite conocer que tanto material vegetativo se necesita macerar para obtener la cantidad necesaria de extracto en peso seco. Esto nos permite tener una dosificación, sin riesgos de toxicidad.

10.3 Microorganismos patógenos inhibidos por las diferentes estructuras y concentraciones del extracto

En el cuadro 6 se puede observar en que casos hubo inhibición en cuanto a concentración y estructura y el número total de microorganismos que presentaron sensibilidad microbiana (+) y aquellos microorganismos que no presentaron halo de inhibición (-) al extracto de hoja, rama y corteza.

extracto	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	Total de microorganismos inhibidos.
120 mg/mL.														
Hoja	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	-	3
Rama	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	8
Corteza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	11
250 mg/mL.														
Hoja	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	4
Rama	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	9
Corteza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	11
500 mg/mL.														
Hoja	+	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	9
Rama	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	9
Corteza	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	11

Cuadro 6 Inhibición de los patógenos por el extracto de hoja, rama y corteza en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

1. *Streptococcus β-hemolítico*; 2. *Streptococcus mutans*; 3. *Staphylococcus aureus*; 4. *Corynebacterium xerosis*; 5. *Enterococcus faecalis*; 6. *Escherichia coli*; 7. *Mycobacterium phlei*; 8. *Cándida albicans*; 9. *Cándida tropicalis*; 10. *Cándida stellatoidea*; 11. *Cryptococcus neoformans*; 12. *Cándida krusei*; 13. *Geotrichum sp.*

La corteza es la que presentó una mayor inhibición, ya que en cada concentración (120, 250 y 500 mg/mL), se obtuvieron once microorganismos sensibles, inhibiendo a las siete cepas de bacterias; *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium phlei*, y cuatro de los seis hongos; *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida stellatoidea* y *Geotrichum sp.*, siendo dos de ellos resistentes; *Cryptococcus neoformans*, y *Cándida krusei*, hecho que se vio reflejado en las tres concentraciones ya que ni aun al aumentar la concentración estos dos hongos mostraron inhibición al extracto del encino.

El que le sigue es el extracto de rama ya que en la concentración de 120 mg/mL sólo afectó a cuatro cepas de bacterias; *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium phlei*, siendo resistentes tres de ellas; *Streptococcus β-hemolítico*, *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium xerosis*, al aumentar la concentración de rama a 250 y 500 mg/mL, se observa una pequeña diferencia ya que se inhibió a cinco cepas de bacterias, las mismas que en 120 mg/mL, pero con la diferencia que *Streptococcus β-hemolítico* también se vio inhibido por estas dos concentraciones. En el caso de las cepas de hongos en las tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL se inhibió a cuatro hongos; *Cándida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Cándida krusei* y *Geotrichum sp.*, de las cuales demostraron resistencia dos de ellas; *Cándida albicans* y *Cándida stellatoidea*.

Por último, el extracto que demostró tener el efecto más bajo de las tres estructuras fue el de hoja ya que todas las bacterias; *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium phlei*, fueron resistentes a las concentraciones de 120 y 250 mg/mL, al aplicar la concentración de 500 mg/mL, se observa una diferencia ya que aquí cinco cepas de bacterias fueron sensibles al extracto; *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis* y *Mycobacterium phlei*, siendo resistentes dos de ellas; *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. En el caso de las cepas de hongos en la concentración de 120 mg/mL, tres hongos; *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis* y *Cándida krusei* se ven inhibidos, de los cuales resultaron resistentes tres de ellos; *Cándida stellatoidea*, *Cryptococcus neoformans* y *Geotrichum sp*, en las concentraciones de 250 y 500 mg/mL, se ven inhibidos los mismos hongos que en la concentración anterior, sumándole uno más *Geotrichum sp*, el cual también demostró ser sensible a estas dos últimas concentraciones.

10.4 Resultados promedio del tamaño de los halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland, sobre las cepas de bacterias en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL, en las estructuras de hoja, rama y corteza

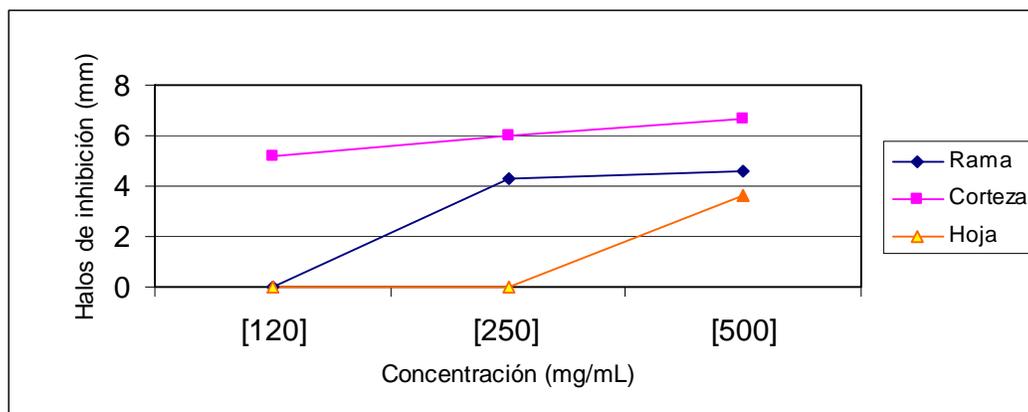
En el cuadro 7, se muestran los resultados promedio del tamaño de los halos de inhibición de las diferentes concentraciones en las cepas de bacterias, para cada una de las estructuras rama, corteza y hoja de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

Microorganismos/ estructura	Hoja (mg/mL)			Rama (mg/mL)			Corteza (mg/mL)		
	[120]	[250]	[500]	[120]	[250]	[500]	[120]	[250]	[500]
S.-β hemolítico	0	0	3,6	0	4,3	4,6	5,2	6	6,7
S. mutans	0	0	4	3,6	3,6	4,3	7	7,9	8,7
S. aureus	0	0	0	0	0	0	7,6	9,2	11,1
C. xerosis	0	0	5	0	0	0	6,1	7	8,1
E. faecalis	0	0	5	5,3	6,5	9,5	7,5	9,4	10,5
E. coli	0	0	0	4,1	6,3	7,4	7,3	9,4	11,3
M. phlei	0	0	4,4	4,0	4,6	5,5	5,6	6,5	8,6

Cuadro 7 resultados promedio de los halos de inhibición (mm) en las diferentes concentraciones (120, 250 y 500 mg/mL) y estructuras (rama, corteza y hoja) de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland para bacterias.

Aquí analizaremos por separado cada bacteria pero de manera general podemos decir, que la estructura de corteza es la que presenta los halos de inhibición más grandes, afectando a todas las bacterias, posteriormente le seguirá rama, la cual obtuvo halos mas pequeños que corteza, e inhibió a cinco de las siete bacterias, algunas de ellas en sus tres concentraciones y por último la hoja, la cual inhibió a cinco bacterias de las siete pero solamente en la concentración más alta.

Streptococcus-β hemolítico



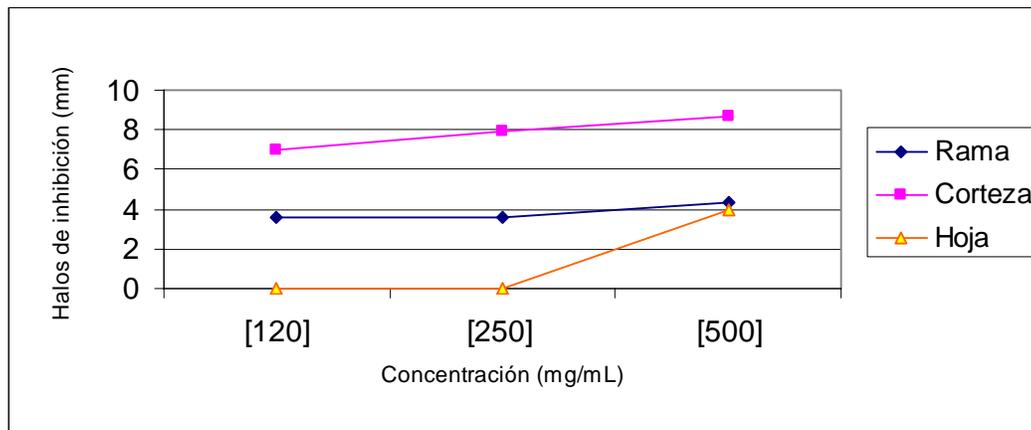
Gráfica 1.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Streptococcus-β hemolítico*.

La estructura de hoja en dos de sus concentraciones 120 y 250 mg/mL no tienen efecto inhibitorio sobre *Streptococcus-β hemolítico*, ya que esta bacteria muestra resistencia frente a estas dos concentraciones, al aumentar esta concentración a 500 mg/mL, se observa la clara diferencia respecto a las dos concentraciones anteriores, ya que esta si presenta halos de inhibición de 3.6 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), en la estructura de rama en la concentración de 120 mg/mL no presenta inhibición, mas sin embargo al aumentar la concentración a 250 mg/mL, se presentan halos de inhibición de 4.3 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), y a la concentración 500 mg/mL los halos de inhibición aumentaron muy poco a 4.6 mm. En la estructura de corteza se presentan en las tres concentraciones inhibición, a medida que aumenta la concentración aumenta el halo de inhibición, a la concentración de 120 mg/mL el halo de inhibición es de 5.2 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), a 250 mg/mL el halo de inhibición es de 6mm y en la concentración de 500mg/mL el halo de inhibición es de 6.7 mm (Gráfica 1).

En cuanto a comparaciones múltiples por estructura ninguna de ellas se comporta similar siendo estadísticamente diferentes a un nivel de confianza del 95%, la corteza fue la mas eficiente de todas ya que presento los halos de inhibición mas grandes con un promedio de 6 mm posteriormente seguiría rama presentando un promedio en el tamaño de halos de inhibición de 4.5 mm, y por último hoja con un promedio de 3.6 mm (Ver apéndice 1.1 *Streptococcus-β-hemolítico*).

En cuanto a comparaciones múltiples por concentraciones las tres se comportan muy similares; ya que en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL se muestran halos de inhibición de 5.2 mm, 5.2 mm, y 5 mm, respectivamente lo que nos indica que son estadísticamente iguales (Apéndice 1.2 *Streptococcus-β-hemolítico*).

Streptococcus mutans



Gráfica 2.- Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Streptococcus mutans*.

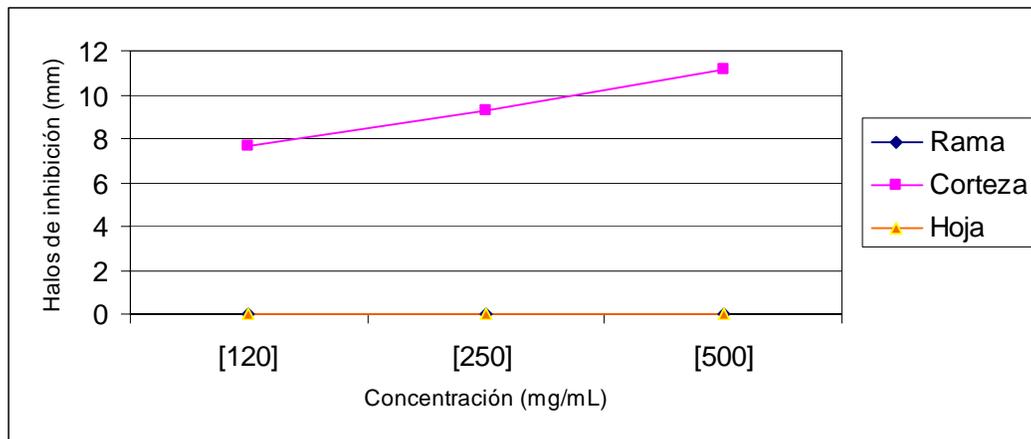
La hoja en las concentraciones 120 y 250 mg/mL no presenta efecto inhibitorio sobre la bacteria *Streptococcus mutans*, en cambio en 500 mg/mL si presente efecto inhibitorio con un halos de 4 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria). Para rama se presentan efectos inhibitorios en las tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL, 3.6 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 3.6 mm y 4.3 mm respectivamente, lo que podemos observar es que tanto la primera como la segunda concentración muestran un halo de inhibición igual, a pesar que la segunda concentración es mayor, mas sin embargo la tercera concentración presenta un mayor efecto inhibitorio que las dos anteriores. Por último la corteza también presenta en sus tres concentraciones efecto inhibitorio y a medida que aumenta la concentración, aumenta el halo de inhibición; a concentración de 120 mg/mL presenta un halo de inhibición de 7 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), a concentración de 250 mg/mL un halo de inhibición de 7.9 mm y a concentración de 500 mg/mL un halo de inhibición de 8.7 mm (Gráfica 2).

En cuanto a comparaciones múltiples por estructura tanto la rama como la hoja presentan homogeneidad ya que el promedio del tamaño de sus halos de inhibición son prácticamente iguales; 3.8 mm para la primera estructura y 4 mm para la segunda estructura, en rama a pesar que en todas sus concentraciones, hubo efecto inhibitorio, obtuvo halos muy pequeños, posteriormente la hoja solo obtuvo halos de inhibición en una sola concentración 500 mg/mL, por último la corteza es la que muestra los halos de inhibición mas grandes en sus tres concentraciones con un promedio de 7.9 mm, presentando diferencia estadística respecto a la rama y hoja (Apéndice 1.3 *Streptococcus mutans*).

En cuanto a comparaciones múltiples por concentración se presenta una homogeneidad en las tres concentraciones, demostrando que son iguales estadísticamente ya que a 120 y 250 mg/mL solo se presento efecto inhibitorio en dos estructuras, rama y corteza con un promedio para la primera concentración de 5.3 mm, y para la segunda de 5.8 y por último la concentración de 500 mg/mL, presento efecto inhibitorio en las tres

estructuras con un promedio de halos de inhibición de 5.6 mm (Apéndice 1.4 *Streptococcus mutans*).

Staphylococcus aureus



Gráfica 3.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Staphylococcus aureus*.

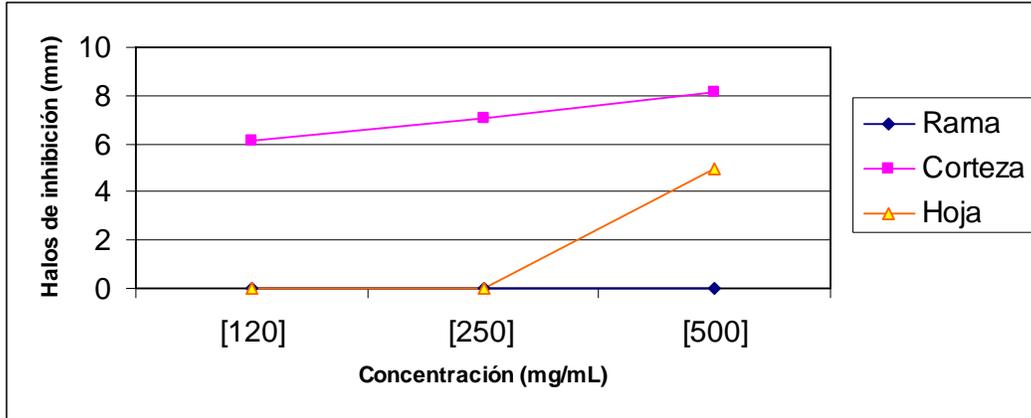
En esta prueba de sensibilidad antimicrobiana podemos observar que la bacteria *Staphylococcus aureus* muestra resistencia frente a las tres concentraciones del extracto de rama y hoja, ya que ninguna de ellas inhibió a este microorganismo. La corteza si muestra efecto inhibitorio en sus tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL con halos de inhibición de 7.6mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 9.2 mm, y 11.1 mm respectivamente (Gráfica 3).

En las comparaciones múltiples por estructura podemos observar que solo corteza tuvo efecto en sus tres concentraciones, con un promedio de 9.3 mm (Apéndice 1.5 *Staphylococcus aureus*).

Por otro lado en las comparaciones múltiples por concentración, todas ellas muestran diferencia en el tamaño de los halos de inhibición ya que a la concentración de 120 mg/mL se observan halos de 7.6 mm, a la concentración de 250 mg/mL se muestran halos de 9.2 mm, y por último en la concentración mas alta 500 mg/mL presenta un halo de 11.1 mm, siendo así estadísticamente diferentes (Apéndice 1.6 *Staphylococcus aureus*).

Corynebacterium xerosis

En esta prueba de sensibilidad aplicada a *Corynebacterium xerosis*, podemos observar que esta bacteria es resistente a las tres concentraciones de rama ya que no presenta halos de inhibición en ninguna de ellas, en el caso de hoja las dos concentraciones 120 y 250 mg/mL, no se presentan halos de inhibición, y a la concentración de 500 mg/mL, se observa un halo de inhibición de 5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), por ultimo la corteza es la única estructura que en sus tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL, muestra halos de inhibición de 6.1 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 7 mm y 8.1 mm respectivamente (Gráfica 4).

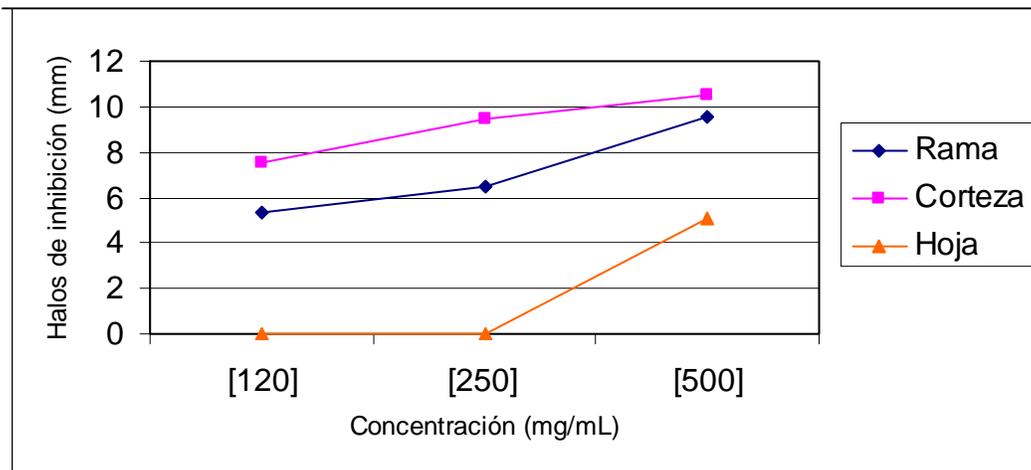


Gráfica 4.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Corynebacterium xerosis*.

Hablando sobre las comparaciones múltiples por estructura podemos observar que tanto hoja como corteza presentan diferencia estadística ya que los halos de la corteza son mayores que hoja. En promedio para la estructura de corteza es de 7.1 mm y para la estructura de hoja de 5 mm (Apéndice 1.7 *Corynebacterium xerosis*).

Por lo tanto para las comparaciones múltiples por concentraciones todas ellas se muestran iguales, ya que en promedio la concentración de 120 mg/mL, presenta halos de inhibición de 6.1 mm, a 250 mg/mL, de 6.5 mm y en 500 mg/mL, de 7 mm, siendo iguales estadísticamente (Apéndice 1.8 *Corynebacterium xerosis*).

Enterococcus faecalis



Gráfica 5.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Enterococcus faecalis*.

En la siguiente gráfica podemos observar que el extracto de hoja en las dos concentraciones de 120 y 250 mg/mL, no muestra efecto inhibitorio sobre la bacteria

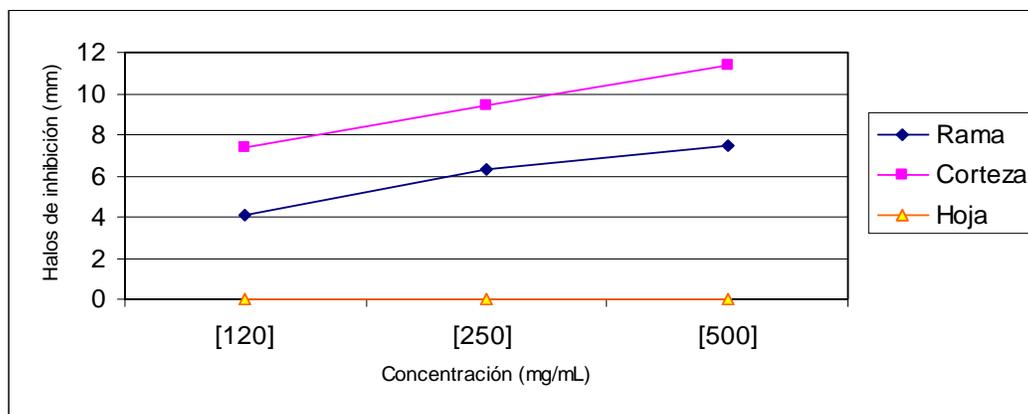
Enterococcus faecalis, pero al aumentar la concentración a 500 mg/mL si observamos una clara inhibición con un halo de 5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria). Para los casos de rama y corteza se ven reflejados mejores resultados, ya que hubo efecto inhibitorio en las tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL, con halos de inhibición de 5.3 mm (este es la concentración mínima inhibitoria), 6.5 mm y 9.5mm respectivamente para rama, y para corteza 7.5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 9.4 mm y 10.5 mm respectivamente (Gráfica 5).

En tanto a las comparaciones múltiples por estructura podemos mencionar que se comportan diferentes, presentado diferencia estadística, ya que hoja solo obtuvo efecto inhibitorio en una sola concentración (500 mg/mL), la rama obtuvo mejor efecto inhibitorio que la hoja puesto que mostró un promedio de 7.1mm, por ultimo la corteza quien obtuvo los mejores halos de inhibición ya que en promedio de sus tres concentraciones obtuvo 9.1 mm (Apéndice 1.9 *Enterococcus faecalis*).

Por último en cuanto a promedio por concentración observamos que a 120mg/mL se presenta diferencia estadística con respecto a 250 y 500 mg/mL, los cuales son iguales estadísticamente, presentando valores de 6.4, 7,9 y 8,3 mm respectivamente (Apéndice 1.10 *Enterococcus faecalis*).

Escherichia coli

En la gráfica 6 se observan los valores promedio del tamaño de los halos de inhibición obtenidos en la prueba de sensibilidad aplicada a ***Escherichia coli***, notando que la estructura de hoja en ninguna de sus tres concentraciones mostró inhibición, en cambio se observa que en las otras estructuras de rama y corteza, se tienen valores positivos en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL, 4,1 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 6.3 mm y 7.4 mm respectivamente, para corteza se obtuvieron halos de 7.3 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 9.4 mm y 11.3 mm respectivamente (Gráfica 6).



Gráfica 6.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Escherichia coli*.

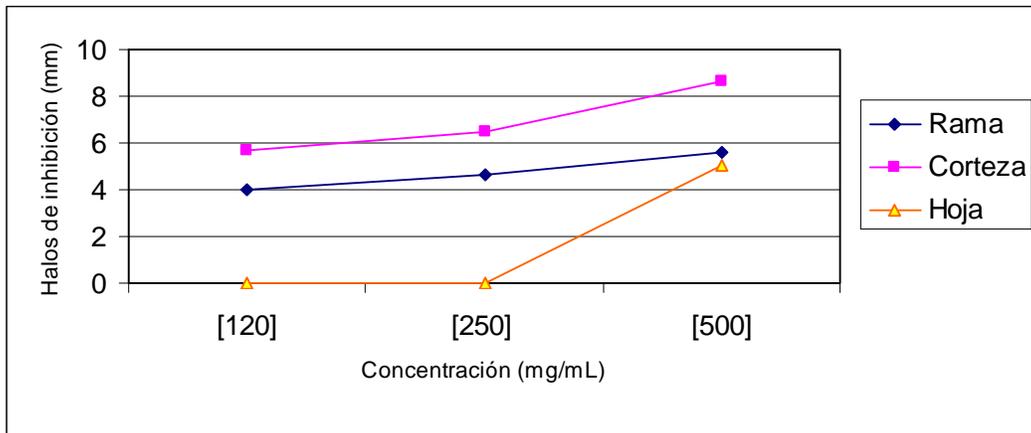
En el caso de comparaciones múltiples por estructura podemos mencionar que la mejor fue corteza seguida de rama ya que inhibieron en sus tres concentraciones, teniendo un promedio de 9.3 mm para corteza y con halos de inhibición más pequeños en promedio

de 5.9 mm para rama y por último hoja la cual no tuvo efecto inhibitorio sobre la bacteria, presentando entre ellas diferencia estadística (Apéndice 1.11 *Escherichia coli*).

En las comparaciones múltiples por concentración, todas ellas son diferentes, la mejor concentración fue la de 500 mg/mL, ya que obtuvo un promedio de 9.4 mm. Seguida de 250 mg/mL, con un promedio de 7.8mm y por ultimo la concentración de 120 mg/mL, con un promedio de 5.7 mm (Apéndice 1.12 *Escherichia coli*).

Mycobacterium phlei

En la gráfica 7 se observan los valores promedio del tamaño de los halos de inhibición obtenidos en la prueba de sensibilidad aplicada a *Mycobacterium phlei*. Se observa una diferencia en las tres estructuras, ya que el extracto de hoja en las dos concentraciones más bajas no muestra efecto inhibitorio sobre la bacteria, en cambio en la concentración de 500 mg/mL si presenta un halo de inhibición de 4.4 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora). Para las estructuras de rama y corteza se ve un caso diferente ya que en las tres concentraciones se ve efecto inhibitorio; en el caso de la rama en 120, 250 y 500 mg/mL, se ven halos de 4 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 4.6 mm y 5.5 mm, respectivamente. Para corteza se observan halos inhibitorios de 5.6mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 6.5 mm y 8.6 mm respectivamente (Gráfica 7).



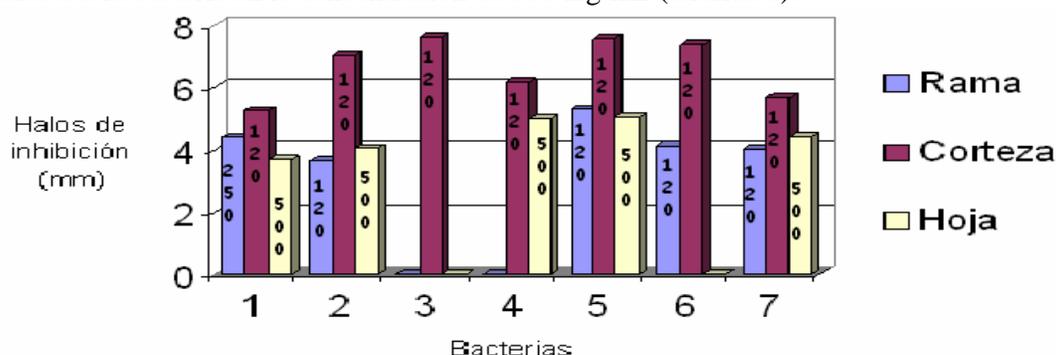
Gráfica 7.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Mycobacterium phlei*.

En el caso de las comparaciones múltiples por estructura podemos observar una igualdad estadística para hoja y rama con halos de inhibición de 4.4 mm y de 4.7 mm respectivamente, muy diferente a lo que sucede con corteza la cual muestra un mejor efecto en cuanto a promedio con 6.9 mm en el tamaño de los halos de inhibición, presentando diferencia estadística con respecto a rama y hoja (Apéndice 1.13 *Mycobacterium phlei*).

Para las comparaciones múltiples por concentración la de 120 con la de 250 mg/mL, se muestran estadísticamente iguales con halos de inhibición de 4.8 mm y de 5.5 mm. La concentración de 500 mg/mL presenta solo diferencia con la concentración de 120 mg/mL, pero igual a la de 250 mg/mL, con un tamaño promedio de halo de inhibición de 6.1mm (Apéndice 1.14 *Mycobacterium phlei*).

Concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja rama y corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland en las diferentes cepas de bacterias

En la gráfica 8 podemos observar como la concentración mínima inhibitoria del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland no permitió el crecimiento de todas las bacterias, aunque no fue la misma concentración en todas las estructuras. *Streptococcus β-hemolítico* en hoja solo muestra efecto inhibitorio en la concentración de 500 mg/mL, mientras las otras dos concentraciones se muestran sin resultados, para rama en la concentración de 120 mg/mL, no muestra efecto inhibitorio sino hasta 250 mg/mL, por ello esta es su concentración mínima inhibitoria, para el caso de corteza la concentración mínima inhibitoria si se muestra en la concentración de 120 mg/mL. *Streptococcus mutans* se ve sensible en la concentración de 120 mg/mL de rama y corteza, pero en hoja esto es lo contrario ya que en las dos concentraciones de 120 y 250 mg/mL, no muestran efecto inhibitorio si no hasta la concentración de 500 mg/mL, (siendo esta la concentración mínima inhibitoria). *Staphylococcus aureus* fue la mas resistente ya que en las estructuras de rama y hoja no mostraron inhibición, pero fue la mas sensible a la concentración de 120 mg/mL en la estructura de corteza mostrando el halo de inhibición mas grande. Para *Corynebacterium xerosis* en la estructura de rama no muestra concentración mínima inhibitoria ya que ninguna de las tres concentraciones afecto a esta bacteria, en cambio en hoja si mostró efecto mínimo inhibitorio en la concentración de 500 mg/mL, ya que las dos concentraciones 120 y 250 mg/mL, no mostraron sensibilidad frente a esta bacteria. *Enterococcus faecalis* a la concentración de 120 mg/mL, denoto sensibilidad tanto en rama como corteza, la hoja fue en donde demostró mayor resistencia ya que solo se vio inhibida en la concentración de 500 mg/mL. *Escherichia coli* en hoja no muestra efecto inhibitorio en ninguna concentración puesto que en ninguna de ellas mostró sensibilidad, por otro lado en rama y corteza si muestra efecto inhibitorio en la concentración de 120 mg/mL. *Mycobacetrrium phlei*, también demuestra ser sensible a la concentración de 120 mg/mL, en las estructuras de rama y corteza, caso contrario a lo que sucede en hoja la cual solo afecto a la bacteria en la concentración de 500 mg/mL (Gráfica 8).



Gráfica 8.-Tamaño promedio de los halos de inhibición (mm) con las diferentes bacterias a la concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja rama y corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

- 1.- *Streptococcus β-hemolítico*; 2.- *Streptococcus mutans*; 3.-*Staphylococcus aureus*;
 4.-*Corynebacterium xerosis*; 5.- *Enterococcus faecalis*; 6.- *Escherichia coli*;
 7.- *Mycobacetrrium phlei*.

10.5 Resultados promedio del tamaño de los halos de inhibición del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland, sobre las cepas de hongos en las concentraciones de 120, 250 y 500 mg/mL, en las estructuras de hoja, rama y corteza

A continuación se analiza el comportamiento de los hongos patógenos probados en esta investigación (cuadro 8), cada estructura inhibió a cuatro hongos, siendo resistentes dos de ellos en cada estructura, demostrando así que la mejor estructura fue corteza, la cual obtuvo los halos más grandes, seguida de rama y por último la hoja.

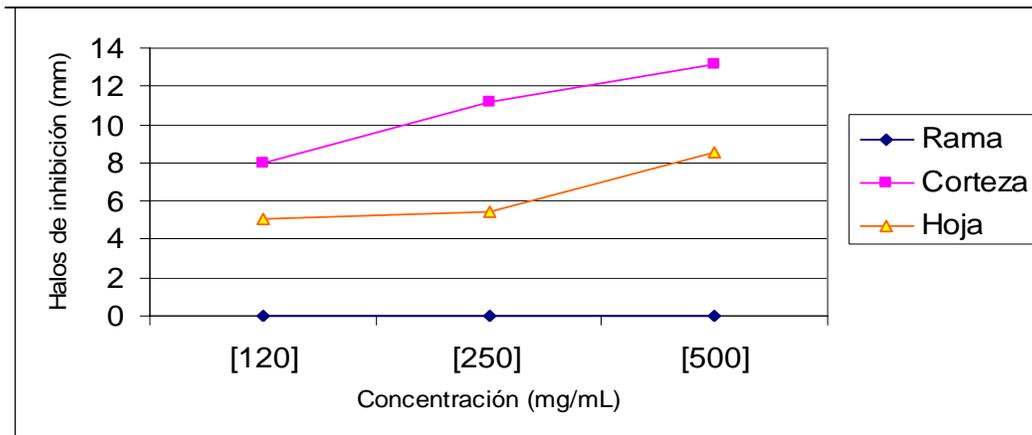
Estructura/ Microorganismos	Hoja (mg/mL)			Rama (mg/mL)			Corteza (mg/mL)		
	[120]	[250]	[500]	[120]	[250]	[500]	[120]	[250]	[500]
<i>C. albicans</i>	5	5,4	8,5	0	0	0	8,0	11,1	13,1
<i>C. tropicalis</i>	5	5,8	6,3	4,3	5,5	6,3	7,5	9,2	10
<i>C. stellatoidea</i>	0	0	0	0	0	0	12,3	14,2	16,7
<i>C. neoformans</i>	0	0	0	4,5	4,8	6,8	0	0	0
<i>C. krusei</i>	4,6	5,4	6,7	3,5	5,4	5,5	0	0	0
<i>Geotrichum sp.</i>	0	4,5	6,2	4	5,2	6,3	5,2	7,2	8,8

Cuadro 8.-Resultados promedio de los halos de inhibición (mm) en las diferentes concentraciones (120, 250 y 500 mg/mL) y estructuras (rama, corteza y hoja) de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland para hongos

Candida albicans.

En la gráfica 9 se observan los valores promedio del tamaño de los halos de inhibición obtenidos en la prueba de sensibilidad aplicada a *Candida albicans*. La gráfica brinda un panorama general de la interacción Estructura-Concentración sobre el tamaño de halo de inhibición, observemos que la estructura de **rama** no muestra efecto inhibitorio en ninguna de sus concentraciones para este hongo ya que se muestra resistente al extracto, mas sin embargo este efecto no sucede en las siguientes dos estructuras **hoja** la cual muestra en sus tres concentraciones efecto inhibitorio a 120, 250 y 500 mg/mL, de 5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 5,4 mm y 8,5 mm respectivamente en cuanto a **corteza** a 120, 250 y 500 mg/mL, se muestran halos de inhibición de 8 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 11,1 mm y 13,1 mm respectivamente (Gráfica 9).

En cuanto a la prueba de comparaciones múltiples por estructura vemos que la mejor de ellas fue la de corteza ya que fue la única que obtuvo efecto inhibitorio en sus tres estructuras con halos en un promedio de 10,7 mm, y la hoja con un promedio de 6,3 mm presentando diferencia estadística (Apéndice 2.1 *Candida albicans*).



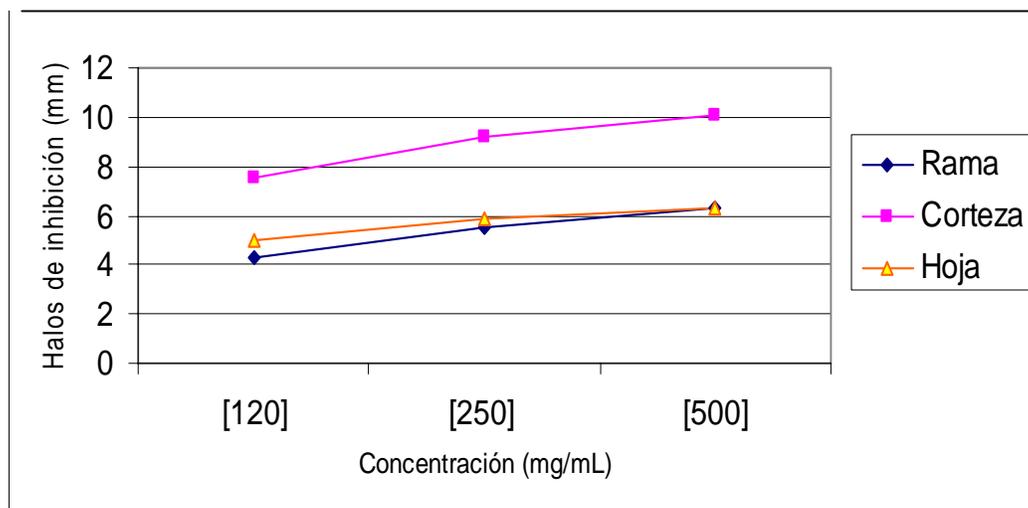
Gráfica 9.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Candida albicans*.

Sobre las comparaciones múltiples por concentración se observa en las estructuras de hoja y corteza que las tres concentraciones presentan diferencia estadística, ya que a 120 mg/mL, se obtuvo un promedio de halos de inhibición de 6,5 mm, para la concentración de 250 mg/mL, se dio un promedio de halos de inhibición de 8,3 mm, y por último los mayores tamaños de halos se dio a 500 mg/mL con un promedio en el tamaño del halo de 10,8 mm (Apéndice 2.2 *Candida albicans*).

***Candida tropicalis*.**

En la prueba de sensibilidad aplicada a *Candida tropicalis* podemos notar la interacción Estructura-Concentración sobre el tamaño de halo de inhibición, notando que el hongo se muestra sensible frente a las tres estructuras y a las tres concentraciones puesto que para rama a la concentración de 120 mg/mL, se obtiene un halo de inhibición de 4,3 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), para 250 mg/mL, se obtuvo un halo de inhibición de 5,5 mm y a 500 mg/mL un halo de 6,3 mm, para hoja a la concentración de 120 mg/mL, se obtiene un halo de inhibición de 5mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), para 250 mg/mL, se obtuvo un halo de inhibición de 5,8mm y a 500 mg/mL un halo de 8,5 mm, para corteza a la concentración de 120 mg/mL, se obtiene un halo de inhibición de 7,5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), para 250 mg/mL, se obtuvo un halo de inhibición de 9,2 mm y a 500 mg/mL un halo de 10 mm, es decir a medida que va aumentando la concentración en cada estructura vemos que el halo de inhibición va aumentando (Gráfica 10).

En las comparaciones múltiples por estructura la mejor de ellas fue corteza con halos de inhibición de sus tres concentraciones en un promedio de 8,9 mm, posteriormente tanto rama como hoja se comportaron similares ya que también sus tres concentraciones mostraron efecto inhibitorio sobre el microorganismo con un promedio de halos para rama de 5,3 mm y para hoja de 5,7 mm (Apéndice 2.3 *Candida tropicalis*).



Gráfica 10.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Candida tropicalis*.

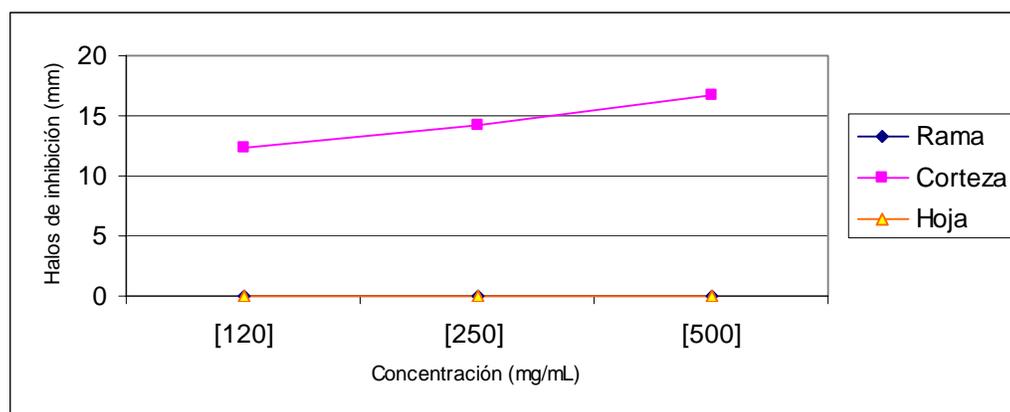
En las comparaciones múltiples por concentración la de 120 mg/mL fue la de los halos más pequeños puesto que en promedio obtuvo halos de 5,6 mm, en tanto las concentraciones de 250 y 500 mg/mL, tuvieron el promedio de halos más grandes que la anterior y de igual tamaño entre estas dos últimas es decir se comportaron muy similares para la primera concentración fue de 6,8mm, y para la segunda fue de 7,7 mm siendo estas diferentes estadísticamente con la concentración de 120 mg/mL (Gráfica 2.4 *Candida tropicalis*).

***Candida stellatoidea*.**

La gráfica 11 brinda un panorama general de la interacción Estructura-Concentración sobre el tamaño de halo de inhibición, observando los valores promedio de los halos de inhibición para *Candida stellatoidea*, fue uno de los hongos más resistentes, ya que en las estructuras de rama y hoja no se presentaron halos de inhibición pero con el extracto de corteza se obtuvo los halos de inhibición más grandes, en las tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL, 12,3 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 14,2 mm y 16,7 mm, respectivamente (Gráfica 11).

En cuanto a comparaciones múltiples por estructura la única que tuvo efecto inhibitorio fue corteza por ello no se puede analizar si hubo o no diferencia significativa (Apéndice 2.5 *Candida stellatoidea*).

En tanto para las comparaciones múltiples por concentración podemos observar que todas ellas se comportan diferentes presentando diferencia significativa, ya que la mejor concentración fue la de 500 mg/mL, con un promedio de inhibición de 16,7 mm, le siguió la de 250 mg/mL, con un promedio de 14,2 mm, y por último la concentración de 120 mg/mL, con un promedio de halos de 12,3 mm. Además se observa que a medida que aumenta la concentración aumenta el halo de inhibición (Apéndice 2.5 *Candida stellatoidea*).



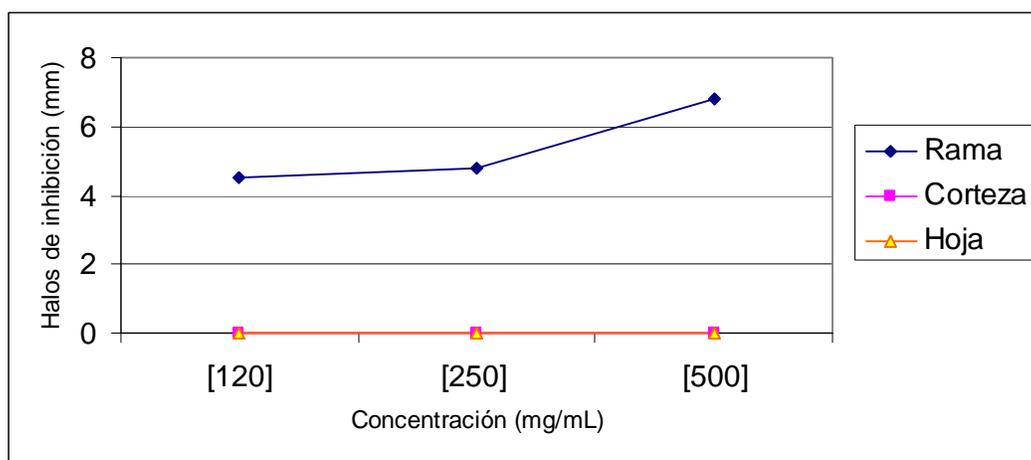
Gráfica 11.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Candida stellatoidea*.

***Cryptococcus neoformans*.**

En la gráfica 12 se analizan los valores promedio del tamaño de los halos de inhibición obtenidos en la prueba de sensibilidad aplicada a *Cryptococcus neoformans*, observando un comportamiento similar a *candida stellatoidea*, pero aquí la mejor estructura fue la rama, en comparación con corteza y hoja, donde no se obtuvo respuesta positiva de inhibición, siendo este otro patógeno resistente al extracto de la corteza y hoja de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland.

El extracto de la rama presenta halos de inhibición en las tres concentraciones siendo de 4.5 mm para 120 mg/mL, de 4.8 mm para 25 mg/mL y de 6.8 para 500 mg/mL, (Gráfica 12).

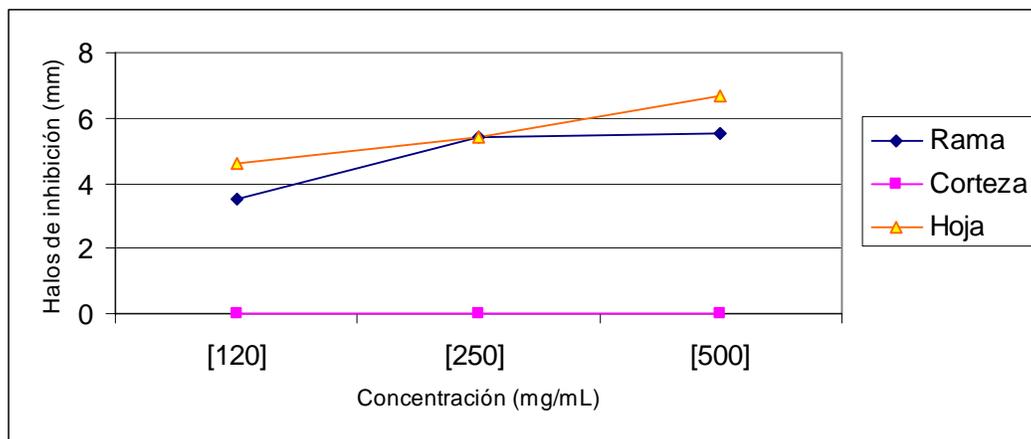
Presentando sólo diferencia significativa en la concentración de 500 mg/mL, ya que son iguales la de 120 y 250 mg/mL, con halos de inhibición de 6.8 mm para 500 mg/mL, de 4.8 mm para 250 mg/mL y de 4.5 mm para 120 mg/mL, (Apéndice 2.7 y 2.8 *Cryptococcus neoformans*).



Gráfica 12.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Cryptococcus neoformans*.

Candida krusei.

En esta prueba de sensibilidad realizada a *Candida krusei* podemos darnos cuenta que la única estructura que no mostró inhibición alguna fue corteza, ya que este hongo se mostró resistente a este extracto, tanto hoja como rama mostraron tener efecto inhibitorio frente a este microorganismo, ya que la estructura de rama a 120, 250 y 500 mg/mL, desarrollo halos de 3,5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 5,4 mm y 5,5 mm, y para hoja 4,6 mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), 5,4 mm y 6,7 mm respectivamente (Gráfica 13).



Gráfica 13 Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Candida krusei*.

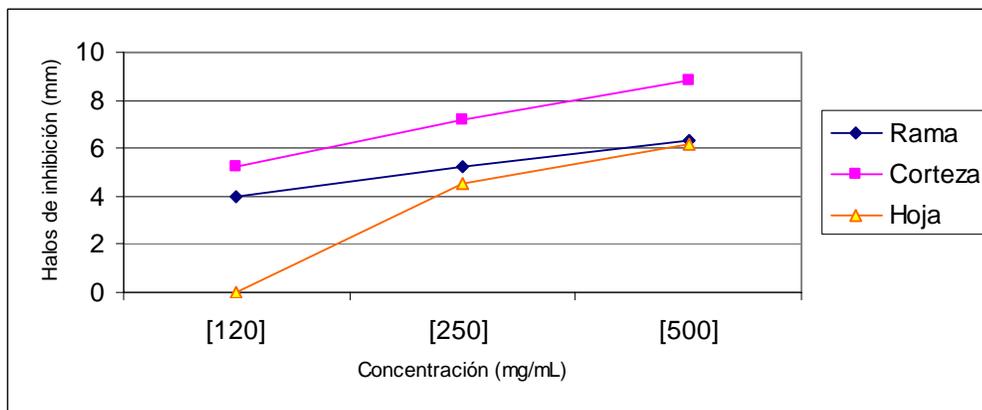
Hablando sobre las comparaciones múltiples por estructura la mejor de ellas fue hoja con un promedio de halos inhibición de 5,6 mm, le siguió rama con un promedio de inhibición de 4,8 mm presentando diferencia estadística significativa (Apéndice 2.9 *Candida krusei*).

En las comparaciones múltiples por concentración la mejor de ellas fue la 500 mg/mL, ya que obtuvo un promedio de halos de inhibición mas grandes de 6,1 mm, posteriormente le siguió la concentración d 250 mg/mL, con un promedio de halos de inhibición de 5,4 mm y por último la concentración de 120 mg/mL, la cual obtuvo el promedio de halos de inhibición mas pequeños de 4mm todas ellas presentando diferencia estadística significativa (Apéndice 2.10 *Candida krusei*).

Geotrichum sp.

En esta prueba de sensibilidad en la gráfica 14 podemos observar como *Geotrichum sp.*, en la estructura de hoja a la concentración mas baja 120 mg/mL, no muestra inhibición ya que este hongo se muestra resistente, presentando solo inhibición en las dos concentraciones mas grandes de 250 y 500 mg/mL, en donde este microorganismo si muestra sensibilidad con halos de inhibición de 4,5 mm (siendo esta la concentración mínima inhibitoria), 6,2 mm respectivamente. En tanto que la estructura de rama muestra mejores los halos de inhibición mayores, ya que, para la concentración de 120 mg/mL, obtuvo un halo de inhibición de 4mm (siendo esta la concentración mínima inhibidora), en la de 250 mg/mL, obtuvo halos de inhibición de 5,2 mm y en la

concentración de 500 mg/mL, obtuvo halos de 6,3 mm, por último en la estructura de corteza se muestran los mejores resultados de inhibición en sus tres concentraciones 120, 250 y 500 mg/mL, con halos de inhibición de 5,2 mm, 7,2 mm y 8,8 mm respectivamente (Gráfica 14).



Gráfica 14.-Interacción Estructura/Concentración sobre el tamaño promedio de los halos de inhibición en los cultivos de *Geotrichum sp.*

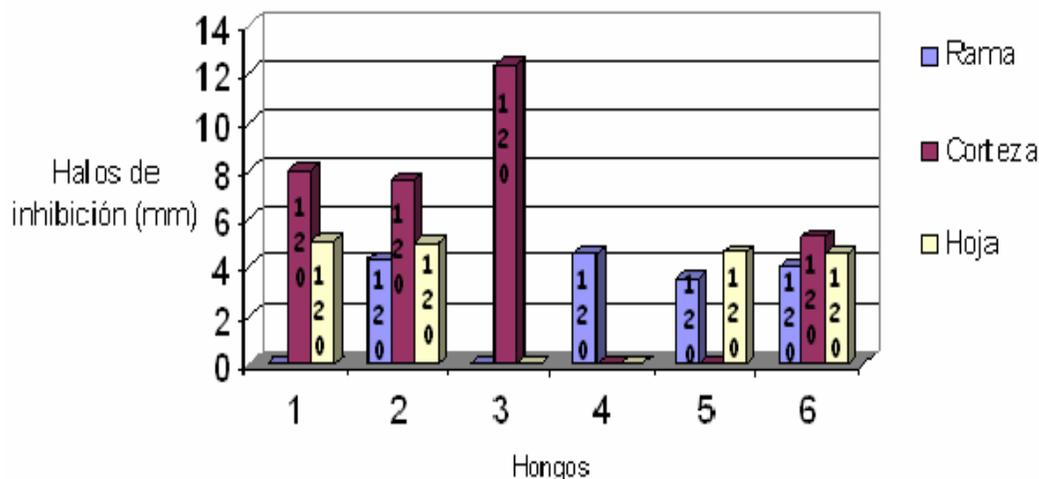
Sobre las comparaciones múltiples por estructura podemos ver que tanto hoja como rama se comportan similares es decir no muestran diferencia significativa, en cuanto al tamaño en sus halos de inhibición para la primera estructura de 5,2 mm y la segunda estructura de 5,3 mm. En cambio corteza varía en cuanto al tamaño de sus halos de inhibición con un promedio de 7,1 mm por ello la mejor estructura es corteza (Apéndice 2.11 *Geotrichum sp.*).

Por otro lado en las comparaciones múltiples por concentración todas de ellas se comportan diferente la mejor fue la más alta 500 mg/mL, con un promedio de halos de inhibición de 7,1 mm, posteriormente le siguió la concentración de 250 mg/mL, con un halo de inhibición de 5,6 mm y por último la concentración más baja 120 mg/mL, con los halos de inhibición más chicos 4,6 mm, también observando que al aumentar la concentración, aumenta el tamaño del halo de inhibición (Apéndice 2.12 *Geotrichum sp.*).

Concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja rama y corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland en las diferentes cepas de bacterias

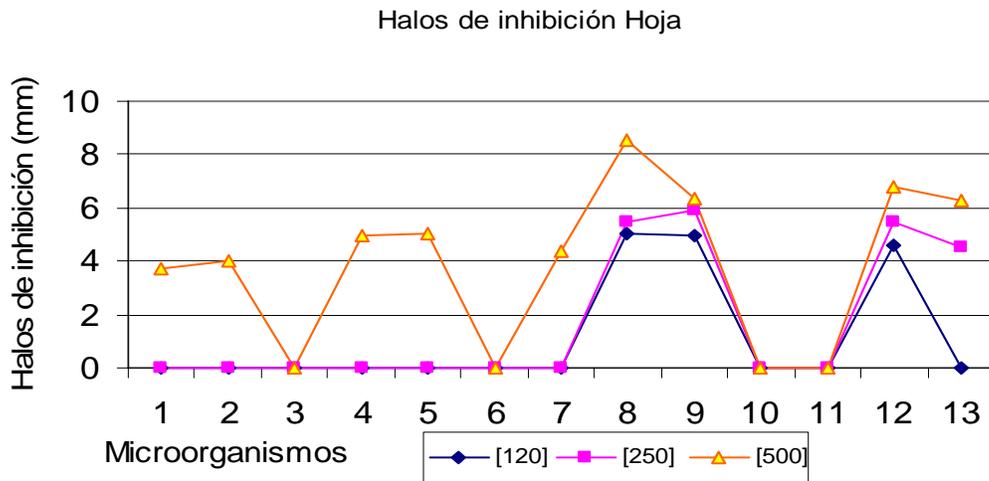
En la gráfica 15 podemos observar que todos los hongos tuvieron efecto inhibitorio en la concentración más baja 120 mg/mL, siendo esta la concentración mínima inhibitoria. *Cándida albicans* demostró ser resistente frente a las concentraciones de rama puesto que en ninguna de ellas hubo efecto inhibitorio, pero frente a corteza y hoja si resultó ser sensible a la concentración más baja 120 mg/mL. *Cándida tropicalis* resultó ser sensible frente a las tres estructuras a la concentración de 120 mg/mL, siendo el halo más grande corteza, seguida de hoja y por último rama. *Cándida stellatoidea*, también mostró resistencia frente a dos estructuras rama y hoja, pero corteza si demostró efecto inhibitorio presentándose el halo más grande en cuanto a concentración mínima inhibitoria. Para el caso de *Cryptococcus neoformans* solo obtuvo efecto en rama, ya

que este microorganismo mostró resistencia tanto a hoja como a corteza en sus tres concentraciones (120, 250 y 500 mg/mL), *Cándida krusei* en rama y hoja también tuvo concentración mínima inhibitoria en 120 mg/mL, caso contrario a corteza el cual no demostró sensibilidad microbiana frente a este hongo. El último hongo que se vio inhibido frente a las tres estructuras en la concentración de 120 mg/mL, fue *Geotrichum sp*, siendo muy parecidos el tamaño de los halos de inhibición (Gráfica 15).



Gráfica 15.-Tamaño promedio de los halos de inhibición (mm) con los diferentes hongos a la concentración mínima inhibitoria del extracto de hoja rama y corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

- 1.- *Cándida albicans*; 2.-*Cándida tropicalis*; 3.-*Cándida stellatoidea*; 4.-*Cryptococcus neoformans*; 5.-*Cándida krusei*; 6.- *Geotrichum sp.***



Gráfica 16.-Interacción concentración/microorganismo sobre el tamaño promedio de halos de inhibición para el extracto de corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

1.-*Streptococcus β-hemolítico*; 2.-*Streptococcus mutans*; 3.-*Staphylococcus aureus*; 4.-*Corynebacterium xerosis*; 5.-*Enterococcus faecalis*; 6.-*Escherichia coli*; 7.-*Mycobacterium phlei*. 8.-*Cándida albicans*; 9.-*Cándida tropicalis*; 10.-*Cándida stellatoidea*; 11.-*Cryptococcus neoformans*; 12.-*Cándida krusei*; 13.-*Geotrichum sp*.

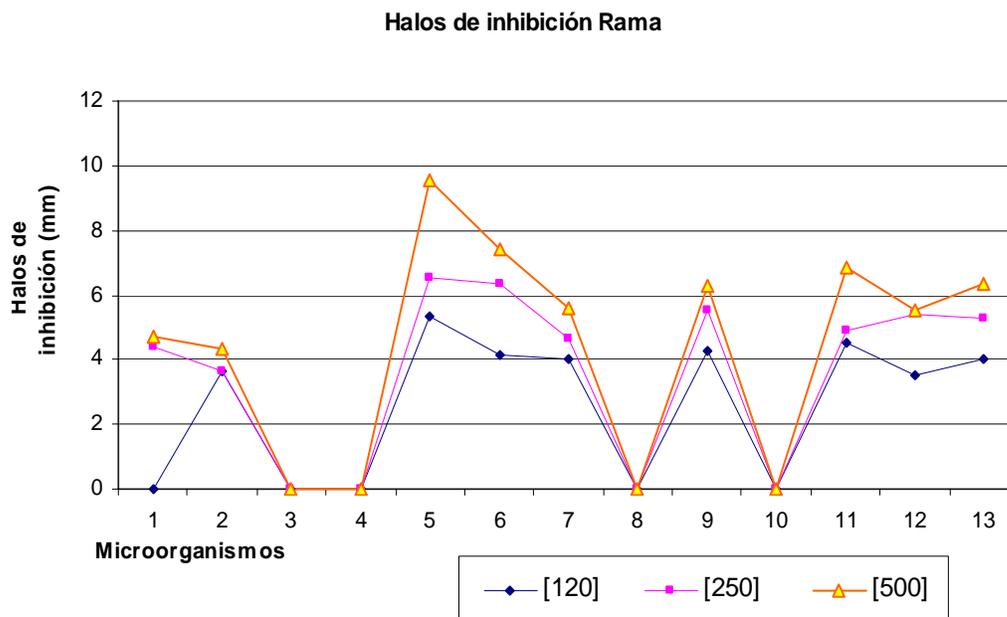
En el caso de hoja se puede decir que fue la estructura mas deficiente de todas, en este caso las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* y los hongos *Cándida stellatoidea* y *Cryptococcus neoformans* se mostraron resistentes a las tres concentraciones de hoja.

En tanto para las bacterias *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis* y *Enterococcus faecalis* resultaron ser resistentes a las dos concentraciones mas bajas (120 y 250 mg/mL), resultando todas ellas sensibles a la concentración mas alta de 500 mg/mL.

Para los hongos *Geotrichum sp* la concentración más baja no presento ningún halo de inhibición pero al aumentar esta a 250 y 500 mg/mL, el hongo se vio inhibido, los restantes hongos *Cándida krusei*, *Cándida albicans* y *Cándida tropicalis* si tuvieron efecto inhibitorio en las tres concentraciones.

Los halos más grandes se presentaron en los hongos *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis* y *Cándida krusei*.

Se puede observar que medida que aumenta la concentración aumenta el halo de inhibición en todos los casos en donde se presento sensibilidad microbiana (Apéndice 3.3 hoja).



Gráfica 17.-Interacción concentración/microorganismo sobre el tamaño promedio de halos de inhibición para el extracto de rama de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

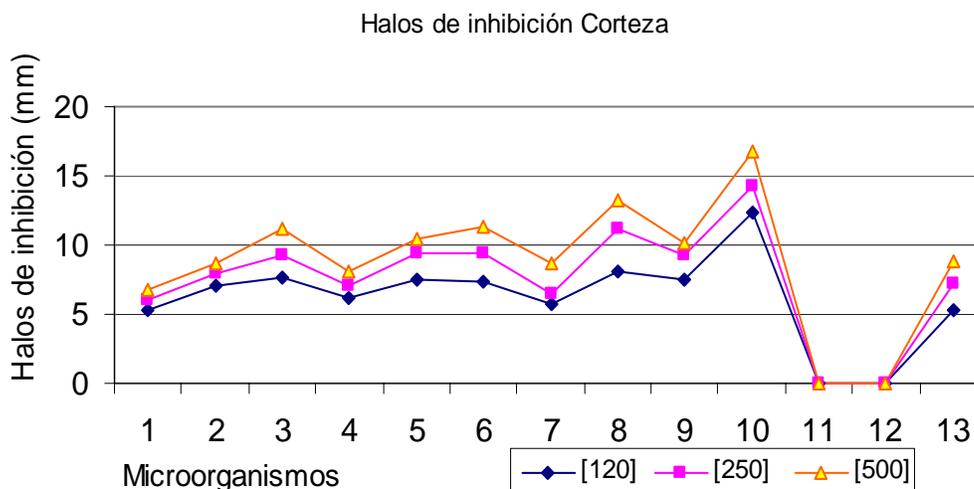
1.-*Streptococcus β-hemolítico*; 2.-*Streptococcus mutans*; 3.-*Staphylococcus aureus*; 4.-*Corynebacterium xerosis*; 5.-*Enterococcus faecalis*; 6.-*Escherichia coli*; 7.-*Mycobacterium phlei*. 8.-*Cándida albicans*; 9.-*Cándida tropicalis*; 10.-*Cándida stellatoidea*; 11.-*Cryptococcus neoformans*; 12.-*Cándida krusei*; 13.-*Geotrichum sp.*

Streptococcus β-hemolítico se muestra resistente a la concentración de 120 mg/mL, mientras que para las dos concentraciones más grandes 250 y 500 mg/mL, presenta halos de inhibición prácticamente similares. *Streptococcus mutans*, *Cryptococcus neoformans*, *Cándida krusei*, *Geotrichum sp*, *Cándida tropicalis*; *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* y *Mycobacterium phlei* son sensible a las tres concentraciones.

La rama no inhibió a dos bacterias *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium xerosis*, y a dos hongos *Cándida albicans* y *Cándida stellatoidea* ya que fueron resistentes al extracto de rama.

Los halos de inhibición más grandes para bacteria se presentó en *Enterococcus faecalis* y *Escherichia coli*, en cuanto a hongos se presentó en *Cryptococcus neoformans*, *Cándida tropicalis* y luego *Geotrichum sp*, siendo sus halos de estas dos últimas muy semejantes.

Se puede observar a medida que aumenta la concentración aumenta el halo de inhibición en todos los casos en donde se presentó sensibilidad microbiana (Apéndice 3.1 Rama).



Gráfica 18.-Interacción concentración/microorganismo sobre el tamaño promedio de halos de inhibición para el extracto de corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland.

1.-*Streptococcus β-hemolítico*; 2.-*Streptococcus mutans*; 3.-*Staphylococcus aureus*; 4.-*Corynebacterium xerosis*; 5.-*Enterococcus faecalis*; 6.-*Escherichia coli*; 7.-*Mycobacterium phlei*. 8.-*Cándida albicans*; 9.-*Cándida tropicalis*; 10.-*Cándida stellatoidea*; 11.-*Cryptococcus neoformans*; 12.-*Cándida krusei*; 13.-*Geotrichum sp.*

El extracto de corteza es el mejor de todos ya que inhibió a las siete cepas de bacterias (*Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*) en sus tres concentraciones (120, 250 y 500 mg/mL).

En cuanto a hongos las tres concentraciones de corteza inhibieron a *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida stellatoidea* y *Geotrichum sp.* No se mostró inhibición y por lo tanto fueron resistentes *Cryptococcus neoformans* y *Cándida krusei* a las tres concentraciones del extracto de corteza.

Los halos de inhibición más grandes para bacterias se presentan en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* y para hongos en *Cándida albicans* y *Cándida stellatoidea*.

Los microorganismos que presentan los mismos halos de inhibición son *Corynebacterium xerosis* y *Geotrichum sp.*

Se puede observar a medida que aumenta la concentración aumenta el halo de inhibición en todos los casos en donde se presentó sensibilidad microbiana (Apéndice 3.2 Corteza).

10.6 Análisis del estudio de espectroscopia infrarroja

Extracto de Corteza

En el estudio de espectroscopia para el extracto de corteza de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland, se presentan los siguientes grupos funcionales (Figura 6).

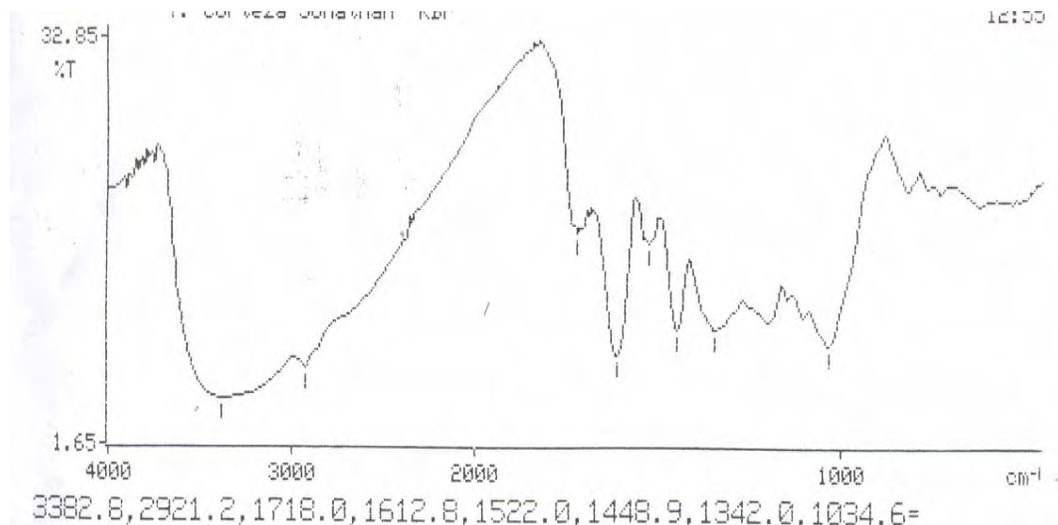


Fig. 6.-Análisis de espectroscopia de infrarrojo para el extracto de Corteza.

En el rango de longitud:

-3382.8: Presenta OH asociado y puede formar enlaces alcohol, fenol, ácido carboxílico.

-2921.2: Presenta OH y puede formar quelatos formando cetonas.

-1718.0: Presenta huella del benceno – Compuesto aromático.

-1612.8: Presenta OH asociado intermolecularmente y puede formar quelatos formando cetonas.

-1522.0: Presenta huella del benceno –Compuesto aromático.

-1448.9: Presenta huella del benceno –Compuesto aromático.

Extracto de Rama

En el estudio de espectroscopia para el extracto de rama de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland, se presentan los siguientes grupos funcionales (Figura 7).

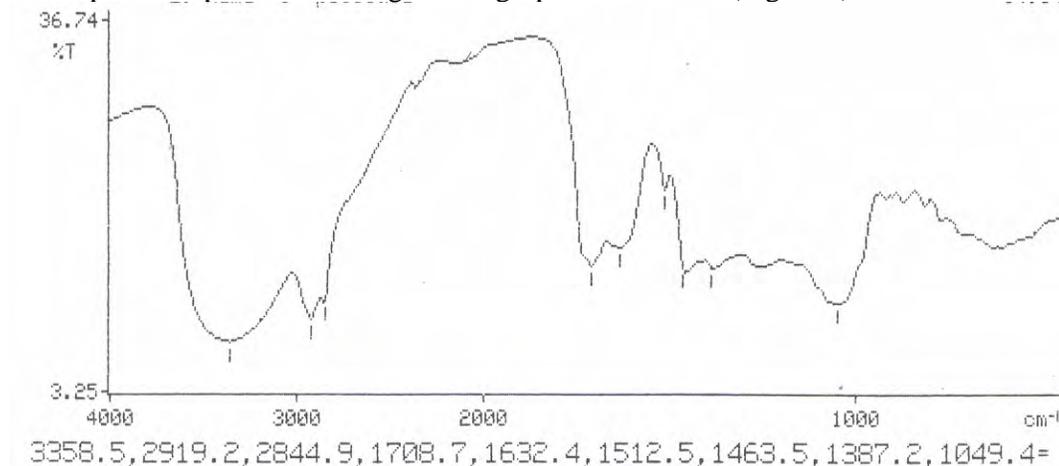


Fig. 7.-Análisis de espectroscopia de infrarrojo para el extracto de Rama.

En el rango de longitud:

-3358.5: Presenta OH asociado y puede formar enlaces alcohol, fenol, ácido carboxílico.

-2919.2: Presenta OH asociado intermolecularmente y puede formar quelatos formando cetonas.

-2844.9: Presenta enlace aldehído.

-1708.7: Presenta huella de benceno-Aromático.

-1632.4: Presenta amida secundaria.

-1512.5: Presenta grupos aromático.

-1463.5: Presenta OH asociado y puede formar enlaces alcohol, fenol, ácido carboxílico.

Extracto de Hoja.

En el estudio de espectroscopia para el extracto de hoja de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland, se presentan los siguientes grupos funcionales (Figura 8).

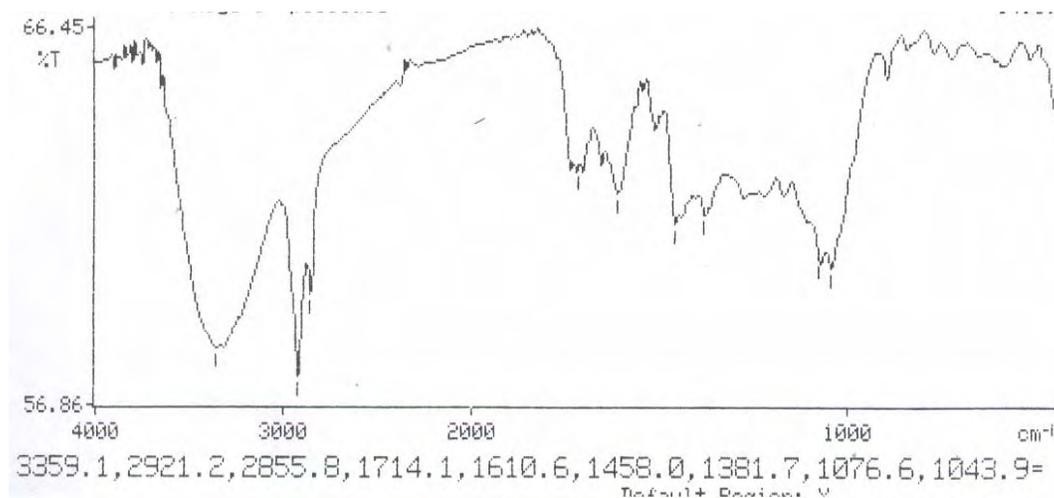


Fig. 8.-Análisis de espectroscopia de infrarrojo para el extracto de Hoja.

En el rango de longitud:

-3359.1: Presenta OH asociado y puede formar enlaces alcohol, fenol, ácido carboxílico.

-2921.2: Presenta OH asociado intermolecularmente y puede formar quelatos formando cetonas.

-2855.8: Presenta alcanos.

-1714.1: Presenta huella de benceno-Aromático.

-1610.6: Presenta huella de benceno-Aromático.

-1458.0: Presenta huella de benceno-Aromático.

Los grupos funcionales encontrados dentro del análisis de espectroscopia nos dan un panorama general de los probables metabolitos secundarios que podemos encontrar dentro de los tres extractos del encino, como podemos observar los mismos metabolitos secundarios se encuentran en los tres extractos de hoja, rama y corteza.

Los lípidos son derivados de ácidos grasos de cadena larga. Mayoritariamente son ésteres entre un ácido graso y un alcohol, pueden presentar la unión con una **amida** formando ceras. Los hidrocarburos saturados son **lípidos** que forman **alcanos** o parafinas.

Los ácidos grasos hidroxilados, poseen uno o más grupos **OH** en la cadena hidrocarbonada.

Glúcidos o hidratos de carbono: Son compuestos orgánicos resultantes del metabolismo primario que contiene en su estructura una función **aldehído** o **cetona** y el resto de los carbonos hidroxilados (**OH**).

Flavonoides: consiste en dos anillos **aromáticos bencénicos** unidos por un enlace de tres carbonos que forma un anillo pirónico con un oxígeno.

Fenoles: Los compuestos aromáticos presentan gran estabilidad por tener la estructura resonante asignada al **benceno**, los fenoles forman los **taninos** que son ésteres formados por una molécula de azúcar (glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácido **fenólicos**.

Los aceites esenciales son productos volátiles, de aroma agradable, los cuales van acompañados de sus derivados oxigenados, **alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, éteres**. Los compuestos aromáticos presentan gran estabilidad por tener la estructura resonante asignada al **benceno**.

Se han reportado en diversos trabajos la utilización de diversas especies de encinos, así como de microorganismos patógenos empleados en esta investigación donde prueban la acción antimicrobiana de diferentes plantas medicinales, a continuación se mencionaran algunos reportes de trabajos de investigación;

*Jorge A., en el año del 2004 en su libro Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos nos habla sobre los glúcidos la cual a tenido efecto bacteriostático frente a cepas de *Staphylococcus aureus*. Posteriormente nos habla sobre *Quercus ilex* La abundante cantidad de taninos que contiene esta especie dentro de la corteza y hojas le confiere propiedades astringentes, hemostáticas y cicatrizantes. Las semillas que se encuentran dentro de las bellotas presentan una actividad astringente menor a la de la corteza. Los taninos pueden producir daño hepático severo. Tanto el ácido tánico como el ácido quercitánico pueden irritar la vía digestiva, por lo que se desaconseja su empleo en forma interna. Para efectos del trabajo de investigación se infiere que gracias a los grupos funcionales encontrados en los extractos del encino los OH asociados a cetonas encontramos glúcidos o hidratos de carbono y los fenoles que dan origen a los taninos y que tienen propiedades bacteriostáticas y fungicidas los cuales se encuentran en mayor concentración en la corteza ya que fue la única que en sus tres concentraciones inhibió a *Staphylococcus aureus*, también los encontramos en rama y hoja pero en menor concentración ya que ninguna inhibió a esta bacteria.

*Quer F., en 1961 en su libro Plantas Medicinales el Discórides Renovado reporta sobre dos encinos *Quercus pubescens* y *Quercus petrae*. Principios activos; Su composición química de las cortezas muestra que son ricas en taninos. Entre las propiedades medicinales debido a la corteza la cual contiene ácido quercitánico, es el que le brinda las virtudes astringentes, tanto la corteza como las hojas han detenido y curado enfermedades relacionadas con la boca; como caries dental,

Candidiasis en la cavidad oral y gingivitis, recordemos los microorganismos que son causantes de enfermedades bucales; *Streptococcus mutans*, *Candida albicans* y *Geotrichum sp.* Los flavonoides son probables metabolitos secundarios encontrados en los tres extractos del encino debido a los grupos funcionales como los compuestos aromáticos, recordemos que los flavonoides tienen funciones como antibacterianos, antivíricos y antifúngicos, *Streptococcus mutans* y *Geotrichum sp* fue inhibido frente a los tres extractos del encino, *Candida albicans* solo fue inhibido por hoja y corteza.

*Youngken W., en 1951 en su libro Tratado de Farmacognosia menciona estudios realizados a diversas especies de *Q. platinoidea*, *Q. alba*.

El extracto hidroalcohólico de la corteza demostró propiedades antiestafilocócicas, frente a *Staphylococcus aureus*, lo cual podría justificar su empleo como antiséptico en heridas de la piel. Su dosis letal media, 1 gramo de principio activo, si se sobrepasa de esta cantidad se observa una toxicidad leve ya que por su alto contenido en taninos puede provocar irritación gástrica y vómitos en organismos sensibles.

El ácido digálico puede producir daño hepático severo. Tanto el ácido tánico como el ácido quercitánico pueden irritar la vía digestiva, por lo que se desaconseja su empleo en forma interna.

*Luna A., en el 2000 en su libro Enciclopedia Medica Naturista, el contenido de flavonoides de *aloe*, *ruibarbo*, *frángula*, *sen*, *cáscara sagrada* y *caña*, brinda propiedades antifúngicas frente a cepas de *Candida albicans* y *Candida stellatoidea*, recordemos que el encino Presenta huella de benceno-aromático, componente de flavonoides, presente en mayor cantidad en corteza, la cual inhibió en sus tres concentraciones a estas bacterias, posteriormente seguiría la hoja la cual solo inhibió a *Candida albicans* y caso contrario con rama la cual no presentó efecto ante ninguno de estos dos hongos lo que nos indica el por que pudo haber inhibido a estas levaduras de candidas.

*Macias Thalía en el 2003 en su tesis La Herbolaria Medicinal del Parque Nacional Izta-Popo Como Antimicrobiano de Patógenos de la Cavidad Oral, menciona que se trabajaron tres tipos de encinos que fueron *Quercus crasipes*, *Quercus rugosa* y *Quercus glabrescens*. En las pruebas de sensibilidad microbiana se obtuvo que el principio activo de *Quercus crasipes* (rama) inhibió a *Streptococcus β -hemolítico*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, (fruto) inhibió *Candida albicans*, *Candida krusei*, (hoja) inhibió *Staphylococcus aureus*, *Quercus rugosa* (rama) inhibió *Streptococcus β -hemolítico*, *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans*, y *Quercus glabrescens* (Hoja) inhibió *Streptococcus β -hemolítico*, *Staphylococcus aureus*, y *Candida albicans*.

Principios activos: amina secundaria, alcanos, cetonas, nitratos, sulfoxidos, quelatos, carboxilos, fenoles. Para efectos del proyecto de investigación se encontró la probable existencia de metabolitos secundarios como taninos, lípidos, glúcidos flavonoides, fenoles y aceites esenciales todos ellos con efectos bacteriostáticos y antifúngicos ya comprobados científicamente, por ello el efecto inhibitorio que sufrieron tanto bacterias en el caso del extracto de hoja; *Streptococcus β -hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis* y hongos; *Mycobacterium phlei*, *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida krusei* y *Geotrichum sp.* Para el extracto de rama las bacterias que resultaron inihibidas son ; *Streptococcus β -hemolítico*,

Streptococcus mutans, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*, para el caso de hongos; *Cándida tropicalis*, *Cryptococcus neoformans*, *Cándida krusei*, y *Geotrichum sp.* Por último para el extracto de corteza las bacterias inhibidas fueron; *Streptococcus β-hemolítico*, *Streptococcus mutans*, *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium xerosis*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium phlei*. Para el caso de hongos; *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis*, *Cándida stellatoidea* y *Geotrichum sp.*

*Wren R., en 1994 en el libro Enciclopedia de Medicina Herbolaria y Preparados Botánicos, nos menciona a *Quercus infectoria*. El cual nos habla sobre las agallas del encino el cual posee entre 60 y 70% de ácido galatánico, que es una mezcla de glucósidos de ácidos fenólicos, principalmente polímeros de ácido gálico.

Entre los usos terapéuticos que se le han dado se utiliza contra la diarrea y la disentería pero puede demostrar efectos tóxicos en grandes cantidades, presenta acción antiviral, antibacteriana y antimicótica. El encino *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland presenta Fenoles y taninos debido a la presencia de los compuestos aromáticos, por ello su capacidad inhibitoria frente a las diversas cepas de hongos y bacterias.

*Kukinskli Claudia en el 2003 en su libro Farmacognosia; Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentos de Origen Natural., las agallas que resultan de la protuberancias en los brotes de las ramas jóvenes del roble *Quercus infectoria* producidas por *Cynpis gallae tinctoriae*, contiene taninos, los cuales son los principios activos.

Principios activos; El principal es el tanino gálico o ácido galatánico (50-70%), esta droga se obtiene pulverizando la agalla y extrayéndola con una mezcla de éter y alcohol saturado con agua. Se obtuvieron dos fases: la fase etérea, que contiene colorantes y ácido gálico libre, y la fase acuosa, que contiene los taninos. Se evapora la fase acuosa y se obtiene un residuo seco en forma de polvo blanquecino de sabor astringente.

Propiedades medicinales; El tanino tiene propiedades astringentes por que contrae los tejidos orgánicos ya que se intercala entre las fibras de colágeno y produce una coagulación de las proteínas. Presenta también acción antiséptica porque coagula las proteínas de los microorganismos. Se usa en quemaduras y dermatosis. Se emplea también como antidiarreico. Es hemostático, contribuye a reparar las lesiones vasculares evitando las hemorragias. Tiene efecto vasoconstrictor, por lo que se usa en el tratamiento de hemorroides. Es capaz de precipitar los alcaloides y se usa en intoxicaciones de estas sustancias. La forma de uso se administra por vía oral en pastillas como antidiarreico; para evitar su efecto irritante del estomago se administra junto con albúmina. Por vía externa se utiliza en forma de cremas, lociones, etc.

La especie de encino que estamos trabajando *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland presenta taninos debido a los compuestos aromáticos los fenoles y estos mismos forman los taninos, los cuales presentan efectos antimicóticos y antibacterianos.

10.7 Resultados de las pruebas de toxicidad sobre *Artemia salina* Leach

En el cuadro se muestran los resultados promedio que se obtuvieron en el porcentaje de mortandad de las *Artemia salina* Leach con la concentración mínima inhibitoria de las diferentes estructuras del extracto de *Quercus obtusata* Humboldt & Bonpland.

Estructura	CMI (Concentración mínima inhibitoria) mg/mL	Muertas 24 horas	Vivas 24 horas	Muertas 48 horas	Vivas 48 horas	Porcentaje de mortalidad
Blanco	-	2	98	3	97	3
Corteza	120	11	89	16	84	16.5
Rama	120	2	98	5	95	5.15
Hoja	500	6	94	12	88	12.37

Cuadro 9 Resultado promedio del porcentaje de mortandad para cada una de las estructuras de la concentración mínima inhibitoria.

Como podemos observar el grupo testigo (blanco) arrojó un promedio de 97 artemias vivas y 3 artemias muertas (3%).

En el caso de corteza se observó en la concentración mínima inhibitoria de 120mg/mL un nivel de toxicidad muy bajo ya que a las 48 horas 84 artemias resultaron estar vivas y 16 muertas, lo que nos dio un porcentaje de mortandad del 16.5%, es decir no sobrepasa la concentración letal media (CL₅₀) que seria de 51 artemias muertas (51%) para ser considerada como sustancia o extracto tóxico.

La concentración mínima inhibitoria de hoja fue la de 500mg/mL, puesto que fue la concentración que mas microorganismos inhibió, a pesar de ser la concentración mas grande no demostró ser toxica ya que a las 48 horas 88 artemias mantuvieron su estabilidad y 12 de ellas murieron, dando como resultado un porcentaje de mortandad del 12.37%, por lo tanto no se puede considera como una sustancia toxica pues no llega a sobrepasar la CL₅₀.

Para el caso de rama muestra menor toxicidad que hoja y corteza por ello a la concentración mínima inhibitoria 120mg/mL (fue la concentración mas baja que inhibió el crecimiento de los microorganismo patógenos), a las 48 horas hay 95 artemias vivas y 5 muertas los que nos da un porcentaje de mortandad del 5.15%, por ello no presenta toxicidad.

Con ello podemos decir que ninguna de las tres estructuras del encino *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland en su concentración mínima inhibitoria resulto ser toxica a las *Artemias salinas* Leach.

XI. CONCLUSIONES

*El suelo donde crece *Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland; es un suelo ácido, con alto contenido de materia orgánica, es arenoso con una buena aireación y un buen drenaje, se clasifica como un andisol.

*La concentración mínima inhibitoria para corteza y rama fue la de 120 mg/mL, y para hoja fue de 500 mg/mL.

*En la concentración mínima inhibitoria el halo mas grande para corteza se presento en la bacteria *Staphylococcus aureus* y en hongo se presento en *Cándida stellatoidea*. Para rama se presento en la bacteria *Enterococcus faecalis* y en el hongo *Cryptococcus neoformans*. Por último para hoja se presentó en los hongos *Candida tropicalis*, *Cándida albicans* y *Candida krusei*.

*Todas las bacteria mostraron inhibición ante el extracto de corteza, los hongos que no mostraron inhibición ante corteza fueron; *Cryptococcus neoformans* y *Cándida krusei*.

*Las bacterias que no presentaron inhibición al extracto de rama fueron; *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium xerosis* y en el caso de hongos fueron; *Cándida albicans* y *Cándida stellatoidea*.

*Para el extracto de hoja las bacterias que no presentaron inhibición *Staphylococcus aureus* y *Corynebacterium xerosis* y en hongos *Cándida albicans* y *Cándida stellatoidea*

*La estructura de corteza presenta los mayores valores de inhibición antimicrobiana, seguida de rama y por último hoja.

*Al aumentar la concentración del extracto aumento el tamaño de los halos de inhibición en las tres estructuras (rama, corteza y hoja).

**Quercus obtusata* Humboldt & Bondpland es una planta donde el extracto actúa tanto como antimicótico como antibacterial.

*La concentración mínima inhibitoria de corteza, rama y hoja no presentaron toxicidad frente a *Artemia salina* Leach.

*El extracto de corteza rama y hoja presentan los mismos grupos funcionales; presenta OH asociados a un alcohol, OH asociado intermolecularmente a una cetona β -dicarbonílica y compuestos aromáticos, solo difiere en que la rama presenta un enlace aldehído y una amida secundaria y hoja presenta alcanos.

*El mejor rendimiento de peso seco del extracto fue en la estructura de corteza, seguida de hoja y por último de rama.

*Con este proyecto de investigación se valida el uso medicinal tradicional del encino para combatir algunos microorganismos patógenos que causan enfermedades.

*La hipótesis se cumple, ya que se encontró que el extracto de corteza, mostró el mayor efecto de inhibición antimicrobiano y la concentración mínima inhibitoria no presento toxicidad frente a *Artemia salina* Leach.

XII. APÉNDICE

APÉNDICE 1. BACTERIAS.

1.1 *Streptococcus-β-hemolítico*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0% Tukey LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Hoja	10	3,6	X
Rama	20	4,5	X
Corteza	30	6	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*2,32667	0,584788
Corteza - Rama	*1,47667	0,462315
Hoja - Rama	*-0,85	0,620261

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.2 *Streptococcus-β-hemolítico*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0% Tukey LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
500	30	5	X
250	20	5,2	X
120	10	5,2	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	0,035	0,958872
120 - 500	0,223333	0,904034
250 - 500	0,188333	0,714701

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.3 *Streptococcus mutans*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0% Tukey LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Rama	30	3,8	X
Hoja	10	4	X
Corteza	30	7,9	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*3,85333	0,486273
Corteza - Rama	*4,04	0,343847
Hoja - Rama	0,186667	0,486273

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.4 *Streptococcus mutans*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0% Tukey LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	5,3	X
500	30	5,6	X
250	20	5,8	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	-0,475	1,3377
120 - 500	-0,363333	1,22115
250 - 500	0,111667	1,22115

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.5 *Staphylococcus aureus*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0% Tukey LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
------------	--------	-------	-------------------

Corteza	30	9,3	-
---------	----	-----	---

Contraste	Diferencia	+/-	Limites
-----------	------------	-----	---------

Corteza	-	-	-
---------	---	---	---

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.6 *Staphylococcus aureus*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0% Tukey LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
---------------	--------	-------	-------------------

120	10	7,6	X
-----	----	-----	---

250	10	9,2	X
-----	----	-----	---

500	10	11,1	X
-----	----	------	---

Contraste	Diferencia	+/-	Limites
-----------	------------	-----	---------

120 - 250	*-1,66	1,06043	
-----------	--------	---------	--

120 - 500	*-3,48	1,06043	
-----------	--------	---------	--

250 - 500	*-1,82	1,06043	
-----------	--------	---------	--

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.7 *Corynebacterium xerosis*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0% Tukey LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Hoja	10	5	X
Corteza	30	7,1	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*2,12333	1,39902

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.8 *Corynebacterium xerosis*.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0% Tukey LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	10	6,1	X
500	20	6,5	X
250	10	7	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	-0,92	1,9174
120 - 500	-0,405	1,66051
250 - 500	0,515	1,66051

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.9 *Enterococcus faecalis*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Hoja	10	5	X
Rama	30	7,1	X
Corteza	30	9,1	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*4,12	1,23585
Corteza - Rama	*2,04667	0,87388
Hoja - Rama	*-2,07333	1,23585

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.10 *Enterococcus faecalis*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	6,4	X
250	20	7,9	X
500	30	8,3	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	*-1,555	1,31315
120 - 500	*-1,94833	1,19873
250 - 500	-0,393333	1,19873

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.11 *Escherichia coli*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Rama	30	5,9	X
Corteza	30	9,3	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Rama	*3,42167	0,928297

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.12 *Escherichia coli*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	5,7	X
250	20	7,8	X
500	20	9,4	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	*-2,1325	1,26713
120 - 500	*-3,65	1,26713
250 - 500	*-1,5175	1,26713

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.13 *Mycobacterium phlei*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Hoja	10	4,4	X
Rama	30	4,7	X
Corteza	30	6,9	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*2,53333	0,855362
Corteza - Rama	*2,19	0,604832
Hoja - Rama	-0,343333	0,855362

*Muestra una diferencia estadística significativa.

1.14 *Mycobacterium phlei*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	4,8	X
250	20	5,5	XX
500	30	6,1	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	-0,73	0,975214
120 - 500	*-1,35167	0,890244
250 - 500	-0,621667	0,890244

*Muestra una diferencia estadística significativa.

APÉNDICE 2. HONGOS.

2.1 *Candida albicans*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Hoja	30	6,3	X
Corteza	30	10,7	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*4,44333	1,17095

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.2 *Candida albicans*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	6,5	X
250	20	8,3	X
500	20	10,8	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	*-1,79	1,68973
120 - 500	*-4,315	1,68973
250 - 500	*-2,525	1,68973

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.3 *Candida tropicalis*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Rama	30	5,3	X
Hoja	30	5,7	X
Corteza	30	8,9	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*3,21667	0,60869
Corteza - Rama	*3,58333	0,60869
Hoja - Rama	0,366667	0,60869

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.4 *Candida tropicalis*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	30	5,6	X
250	30	6,8	X
500	30	7,5	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	*-1,24333	0,948696
120 - 500	*-1,94667	0,948696
250 - 500	-0,703333	0,948696

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.5 *Candida stellatoidea*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Corteza	30	14,4	-
Contraste	Diferencia		+/- Limites
Corteza	-		-

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.6 *Candida stellatoidea*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	10	12,3	X
250	10	14,2	X
500	10	16,7	X
Contraste	Diferencia		+/- Limites
120 - 250	*-1,88		0,882457
120 - 500	*-4,4		0,882457
250 - 500	*-2,52		0,882457

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.7 *Cryptococcus neoformans*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
------------	--------	-------	-------------------

Rama	30	5,4	-
------	----	-----	---

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

Rama	-	-
------	---	---

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.8 *Cryptococcus neoformans*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
---------------	--------	-------	-------------------

120	10	4,5	X
250	10	4,8	X
500	10	6,8	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
-----------	------------	-------------

120 - 250	-0,34	0,626473
120 - 500	*-2,31	0,626473
250 - 500	*-1,97	0,626473

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.9 *Candida krusei*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Rama	30	4,8	X
Hoja	30	5,6	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Hoja - Rama	*0,823333	0,532071

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.10 *Candida krusei*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	4	X
250	20	5,4	X
500	20	6,1	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	*-1,37	0,435181
120 - 500	*-2,08	0,435181
250 - 500	*-0,71	0,435181

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.11 *Geotrichum sp*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Estructura).

Método: 95,0 por ciento LSD

Estructura	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
Rama	30	5,2	X
Hoja	20	5,3	X
Corteza	30	7,1	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
Corteza - Hoja	*1,72167	0,817258
Corteza - Rama	*1,89333	0,730977
Hoja - Rama	0,171667	0,817258

*Muestra una diferencia estadística significativa.

2.12 *Geotrichum sp*

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por Concentración).

Método: 95,0 por ciento LSD

Concentración	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
120	20	4,6	X
250	30	5,6	X
500	30	7,1	X

Contraste	Diferencia	+/- Limites
120 - 250	*-1,05667	0,773079
120 - 500	*-2,50667	0,773079
250 - 500	*-1,45	0,691463

*Muestra una diferencia estadística significativa.

APÉNDICE 3. Estructuras.

3.1 RAMA.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por microorganismo).

 Método: 95,0 por ciento LSD

Número	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
3	30	0.0	X
4	30	0.0	X
8	30	0.0	X
10	30	0.0	X
1	30	0.29	X
2	30	0.38	X
7	30	0.47	X
12	30	0.48	X
13	30	0.51	X
9	30	0.53	X
11	30	0.53	X
6	30	0.59	X
5	30	0.71	X

3.2 CORTEZA.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por microorganismo).

 Método: 95,0 por ciento LSD

Número	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
11	30	0.0	X
12	30	0.0	X
1	30	0.59	X
7	30	0.69	X
4	30	0.70	X
13	30	0.70	X
2	30	0.78	X
9	30	0.89	X
5	30	0.91	X
3	30	0.93	X
6	30	0.93	X
8	30	1.07	X
10	30	1.44	X

3.3 HOJA.

Prueba de comparaciones múltiples de Tukey (Inhibición por microorganismo).

Método: 95,0 por ciento LSD

Número	Conteo	Media	Grupos Homogéneos
3	30	0.0	X
6	30	0.0	X
10	30	0.0	X
11	30	0.0	X
1	30	0.12	X
2	30	0.13	X
7	30	0.14	X
4	30	0.16	X
5	30	0.16	X
13	30	0.35	X
12	30	0.55	X
8	30	0.57	X
9	30	0.57	X

XIII. BIBLIOGRAFÍA

- Acosta L. (2002). "Desinfección de Plantas Medicinales; Principios Básicos". (En línea). <http://www.herbotecnia.com.ar/herbociencia.html> (Consulta 1 de septiembre del 2007).
- Ades J., y Oliva V. (2001). "Manual de Toxicología para la Carrera de QFB". 1ª edición. Ed. UNAM. México. Pág. 17.
- Aguilar A. (2001). "Guía de Plantas Medicinales". Revista México Desconocido. Edición especial. México DF. Pág. 20, 44.
- Alesón A. (2004). "Todo Sobre las Plantas Medicinales". 1ª edición. Ed. Televisa. México. Pág. 10.
- Alzina A. (1986) "Cuadernos de Fitoterapia Clínica". Ed. Masson. México. Pág. 33-37.
- Anderson L., Barnes J., y Phillipson D. (2002). "Medicines Herbal". 2a edición. Ed. Pharmaceutical. London England. Pág. 123, 124, 131, 133.
- Aoki K., Encarnación R., y Cortes A. (2004). "Evaluación Toxicológica de Productos Naturales Usando Microtécnicas". Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. México. 36 (1); 11-15.
- Arteche (1998). "Vademecum de Fitoterapia". 3ª edición. Ed. Cita. Bilbao España. Pág. 2, 3.
- Ayres G. (1970). "Análisis Químico Cuantitativo". 2ª edición. Ed. Press-Harla. México. Pág. 185.
- Bailey S. (1991). "Diagnostico Microbiológico". 7ª edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina. Pág. 352.
- Bailón L., Gonzales R., y Cervantes A. (2005). "Atlas de Pruebas Bioquímicas para Identificar Bacterias". 1a edición. Ed. UNAM. México. Pág. 9, 17, 25-30.
- Blumenthal M., Goldberg A., y Brinkmann J. (2000). "Herbal Medicine: Monografía Encinos". Ed ABC. Estados Unidos. Pág. 925.
- Bovey R., Baggiolini A., Bolay A., Corbaz G., Mathys A., Murbach R., y Pelet F. (1989). "La Defensa de las Plantas Cultivadas". 1ª edición. Ed. Omega. México. Pág. 8.
- Bown D. (1996). "Enciclopedia de las Hierbas y sus Husos" 1ª edición. Ed. Grijalva. Sociedad de Horticultura Barcelona España. Pág. 415-419.
- Braude A., y Davis C. (1984). "Microbiología Clínica". 2ª edición Ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina. Pág. 33.
- Brock T. (1978). "Biología de los microorganismos". 2ª edición. Ed. Omega. Barcelona España. Pág. 721.
- Burnett G., y Scherp H. (1986). "Microbiología y enfermedades Infecciosas de la boca". 1ª edición. Ed. Limusa. México. Pág. 48, 49, 52, 285, 621.
- Burriel F., Lucena F., Arribas S., y Hernández J. (1998). "Química Analítica Cuantitativa". 16ª edición. Ed. Paraninfo. Madrid España. Pág. 313.
- Carpenter P. (1979). "Microbiología". 4ª edición. Ed. Interamericana. México. Pág. 59, 343, 398, 399.
- Castro T. (2004). "Alimento Vivo Para Organismos Acuáticos". 1ª edición. Ed. Editor. México. Pág. 67-80.
- Cañavarte R. (1995). "Fitoterapia" Revista Natura Médica. Barcelona España. 37 (85); 45-52.
- Ceballos J., y Fernández C., (1980). "Plantas Silvestres de la Península Ibérica". 1ª edición. Ed. Blume. Madrid España. Pág. 29.

-
- Cebrian J. (2002). "Diccionario Integral de Plantas Medicinales". 1ª edición. Ed. Integral. Barcelona España. México. Pág. 8-11, 201, 225, 504.
- Cedric A., y Jhon H. (1995). "Microbiología Medica". 1ª edición. Ed. Mosby/Doyma. España. Pág. A-21-39.15 y 39.16.
- Cervantes A., Márquez M., y Rivera P. (2006). "Análisis Estadístico un Enfoque Practico con Statgraphic". UNAM. México. 10-15.
- Charles R., y Robert E. (1984). "Farmacología Medica". 1ª edición. Ed. Interamericana. México. Pág. 92-95.
- Chiereghin P. (2000) "Farmacia Verde Manual Practico de Herboristería". 1ª edición. Ed. Mundi Prensa. Madrid España. Pág. 121, 143, 145-149.
- Cronquist. (1981). "An Integrated System of Classification of Flowering Plants". Columbia University Press. New York EUA. Pág. 15.
- Duchaufour P., Bonneau M., Jacquin F., y Souchier B. (1978). "Manual de Edafología". 2ª edición. Ed. Toray-Masson. Barcelona España. Pág. 145, 156-160, 165, 199, 235, 289.
- Daniel M. (2006). "Medicinal Plants Chemistry and Properties". Ed. Science Publisher. USA. Pág. 456-450
- Delaat A. (1985). "Microbiología". 2ª edición. Ed. Interamericana. México. Pág. 37, 38, 43-47.
- De La Fuente J., Narro J., Tapia R., Camacho R., Tamayo J., y Higuera F. (1998). "Farmacopea Homeopática de los Estados Unidos Mexicanos". Secretaria de Salud. México. Pág. 7.
- Domínguez A. (1979). "Métodos de Investigación Fitoquímica". 1ª edición. Ed. Limusa. Nuevo León México. Pág.46-48, 111, 112, 150.
- Duerden B. (1993). "Microbiología de Enfermedades Infecciosas". 1ª edición. Ed. Limusa México. Pág. 210, 474.
- Elizabeth M., Williamson E., Okpako D., y Evans F. (1998). "Selection, Preparation and Pharmacological Evaluation of Plant Material". 2ª edición. Ed. John Wiley & Sons. London England. Pág. 143, 157, 159, 170.
- Faschka H., Barnard A., y Sturrock P. (1984). "Química Analítica Cuantitativa". Volumen 1. 9ª impresión. Ed. Continental. Barcelona España. Pág. 547.
- Fernández J., y Cuesta P. (1994). "Plantas Medicinales Un Recetario Básico". 1ª edición. Ed. Omega. Barcelona España. Pág. 11, 12.
- Flores R. (1997). "Atlas de las Plantas Medicinales y Curativas; La Salud a Través de las Plantas". Ed. Cultural. Barcelona España. Pág. 59.
- Foth H., y Turk L. (1980). "Fundamentos de la Ciencia del Suelo". 4ª impresión. Ed. Continental. Pág. 179.
- Franck C. (1992). "Toxicología Básica" Ed. Harla. México. Pág. 9-11.
- Freeman H. (2001). "Análisis Químico Cuantitativo". 2ª edición. Ed. Reverte. Barcelona España. Pág. 630.
- Gerald M. (1997). "Enfermedades Infecciosas Principios y Practicas". Ed. Panamericana. Buenos Aires. Argentina. Pág.990, 1250.
- Gisbert M. (1995). "La Salud por las Plantas Medicinales y la Medicina Natural" 1ª edición. Ed. Sabate. Barcelona España. Pág.107, 108.
- Gobierno del Estado de México (2004). "Mapa Estado de México". (En línea), www.mappinginteractivo.com/.../art.9/imag6.jpg (Consulta 10 de septiembre del 2007).
-

-
- González F., y Cameros F., (1996) "Microbiología Bucal y Clínica". Ed. Fernández. México. Pág. 570.
- Granados R. y Villaverde C. (1998). "Microbiología". Ed. Paraninfo. Madrid España.
- Herbario Neotropical, (2005). "*Quercus obtusata*". (En línea), <http://fm1.fieldmuseum.org/vrrc/?page=view&id=24003&PHPSESSID=c6275b09c612be7f46c99fade1f77d68> (Consulta 3 de diciembre 2007).
- Hodgson J. (1987). "Muestreo y Descripción de Suelos". Ed. Reverté. Barcelona España. Pág. 128-132.
- Hostettman K., Marston A., Maillard M., y Hamburger M. (1995). "Phytochemistry of Plants Used in Traditional Medicine". Ed. Oxford University. USA. Pág. 330, 331, 334, 339.
- INEGI (1982). "Carta Edafológica de Amecameca de Juárez". 1ª edición. Escala 1:50000. E14B41. México.
- INEGI (2001). "Carta Topográfica de Amecameca de Juárez". 2ª edición. Escala 1:50000. E14B41. México.
- INEGI (1983). "Carta de Uso del Suelo y Vegetación de Amecameca de Juárez". 1ª edición. Escala 1:50000. E14B41. México.
- Ingraham J., (1998). "Introducción a la Microbiología". Volumen II. Ed. Reverte. Barcelona España. Pág. 90-97.
- Jackson M., (1976). "Análisis Químicos de Suelo". 3ª edición. Ed. Omega. Barcelona España. Pág.71-81.
- Jean B. (1991). "Elementos de Fitoquímica y de Farmacognosia". 1ª edición. Ed. Lavoisier. Zaragoza España. Pág. 180-190, 235, 255, 358.
- Jiménez F. (1994). "Plantas Medicinales de San Juan Tepecoculco, Municipio de Atlautla de Victoria en el Estado de México". Tesis UNAM. México. Pág. 101, 102.
- Jorge A. (2004). "Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos". 4ª edición. Ed. Corpus. Buenos Aires Argentina. Pág. 5,6, 15, 20, 435, 436.
- Koneman E. (1997). "Diagnostico Microbiológico". Texto y atlas a Color. 3ª edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina. Pág.414, 425, 705, 706.
- Kukinskli C. (2003). "Farmacognosia; Estudio de las Drogas y Sustancias Medicamentos de Origen Natural". Ed. Omega. Barcelona España. Pág. 6,12, 13, 32, 292, 293.
- Laguerenne A. (1981). "Como Hacer un Herbario". 5ª edición. Ed. Continental. México. Pág. 13, 14.
- Lemus T. (1998). "Conserve la Salud con Ayuda de la Herbolaria". 16ª edición. Ed. Aguilar. México. Pág. 3.
- Lennette E. (1991). "Manual de Microbiología Clínica". 4ª edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina. Pág. 189, 284, 279, 1356.
- Leung A., y Foster S. (1996). "The Encyclopedia of Common Natural". Ed. John Wiley & Sons. Estados Unidos. Pág. 926.
- Levinson W., y Ernest J. (1992). "Microbiología e Inmunología Medica". 2ª Edición. Ed. Manual Moderno. México. Pág. 87, 363, 510.
- Linares E., y Bye R. (1999). "Plantas Medicinales de México". Jardín botánico UNAM. México. Pág. 5.
- Linares E., Bye R., y Flores B. (1996). "Selección de Plantas Medicinales de México". 5ª edición. Ed. Limusa. México. Pág. 9, 13, 15.
-

-
- Luna A. (2000). "Enciclopedia Medica Naturista". 1ª edición. Ed. Mexicanos Unidos. Impreso en México. Pág. 157-159.
- Luna A., Montalvo L., Rendón B. (2003). "Los Usos no Leñosos de los Encinos". Sociedad Botánica Mexicana. México. 3 (72); 107-117.
- Macias T. (2003). "La Herbolaria Medicinal del Parque Nacional Izta-Popo Como Antimicrobiano de Patógenos de la Cavidad Oral". Tesis UNAM. México. Pág. 127, 128.
- Martín J. (1995). "Ethnobotany". 1ª edición. Ed. Chapman & Hall. New York USA. Pág. 83.
- Martínez M. (1996). "Las Plantas Medicinales de México" 6ª edición. Ed. Botas. México. Pág. 418, 419.
- Martínez P. (2004). "Facultad de Química Colombia: Análisis del Procedimiento Para la Determinación de la DL50 (Dosis Letal Media)". (En línea). <mailto:pedronelmartinez@Hotmail.com> (Consulta 1 de septiembre del 2007).
- Mata R. (2000). "Curso Teórico de Farmacognosia; Material Didáctico" Facultad de Química. Ed. UNAM. México. Pág. 11, 12, 13.
- Mittermeier R. (1988) "Primate Diversity and the Tropical Forest. Case Studies From México and the Importante of the megadiversity Countries". Biodiversity. Ed. Wilson. E.U. Pág. 41.
- Niembro A. (1990). "Árboles y Arbustos Útiles de México". 2ª edición. Ed. Limusa. México. Pág.19-22, 159, 191.
- Norma Oficial Mexicana (2000). "NOM-021-RECNAT-2000; Que Establece las Especificaciones de Fertilidad, Salinidad y Clasificación de Suelos, Estudios, Muestras y Análisis". México.
- Ortega J y Príncipe J. (2005). "Expertos en Fitoterapia: Indicaciones, Contraindicaciones, Precauciones, Interacciones". Ed. Formación Alcalá. México. Pág. 123-130, 141, 144, 157.
- Pahlow M. (1985). "El Gran Libro de las Plantas Medicinales". 7ª edición. Ed. Everest. Madrid España. Pág. 234-240.
- Payrol J., Miranda M., Toledo C., y Castillo O. (2001). "Actividad Farmacológica Preliminar del Fruto de *Bromelia pinguin* L. (Piña de ratón). Revista Cubana de Farmacia. 35 (1).
- Pedrozo J., y Torrenegra R. (2001). "Exploremos la Química". Ed. Prentice-Hall. Bogotá Colombia. Pág. 576, 675, 730.
- Pérez P., Rodríguez H., Lara R., Montes B., y Ramírez V. (2004). "Toxicidad de Aceites, Esencias y Extractos Vegetales en Larvas de Mosquito *Culex quinquefasciatus* y (Diptera: Culicidae)". Acta Zoológica Mexicana. México. 20 (1); 141-152.
- Porter L., (1989) "Fitoterapia Aplicada: Taninos en Plantas Métodos Bioquímicos" Vol. 1. Ed. Press-Academic. Londres Inglaterra. Pág.389-419.
- Pritchett W. (1990). "Suelos Forestales". 2ª edición. Ed. Noriega. México. Pág. 57.
- Quer F. (1961) "Plantas Medicinales: El Discórides Renovado". Ed. Labor. Barcelona España. Pág. 156, 180, 189, 190, 199, 201, 205, 210.
- Ramírez M. (1989). "La Herbolaria un Aporte para su Recate Cultural". 1ª edición. Ed. Divulgación Científica y Tecnológica. Universidad de Nuevo León México. Pág. 7, 16.
- Ratera E., y Ratera M. (1980). "Plantas de la Flora Argentina Empleadas en Medicina Popular". 1ª edición. Ed. Hemisferio Sur. Buenos Aires Argentina. Pág. 5.
-

-
- Redmore F. (1981). "Fundamentos de Química". 1ª edición. Ed. Prentice-Hill Hispanoamericana. México. Pág. 570, 580.
- Reyes I. (1996). "Fundamentos Teóricos Prácticos de Temas Selectos de la Ciencia del Suelo". UAM México. Pág. 79-81, 118-120.
- Reyes P., (1982). "Bioestadística Aplicada". 1ª edición. Ed. Trillas. México. Pág. 110-112.
- Robert G., y frederick R. (1980) "Introducción a la Ciencia del Suelo". 2ª edición. Ed. Editor. Colegio de Postgraduados. Chapingo México. Pág. 34-44.
- Ronald M. y Richard B. (2002). "Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental". 2ª edición. Ed. Addison Wesley. España. Pág. 162.
- Rubio J. y Segade J. (1985). "Espectroscopia". 1ª edición. Ed. Alambra. Madrid España. Pág. 1.
- Rzedowski J., y Rzedowski G. (1979). "Flora Fanerogámica del Valle de México". 2ª edición. Volumen 1. Ed. Continental. México. Pág. 49, 50, 114.
- Rzedowski J. (1994). "Vegetación de México". 6ª Edición. Ed. Limusa. México. Pág. 34, 263-267.
- Sacsquispe C., y Velásquez P. (2002). "Manual de Procedimientos para la Prueba de Sensibilidad Antimicrobiana por el Método Disco de Difusión". Sector Salud. Perú. Pág. 11, 12.
- Samano L. (1998). "Plantas y Yervas Curativas de México". 2ª edición. Ed. Gómez Hnos. México. Pág. 6.
- Sánchez O. (1979). "La Flora del Valle de México". 5ª edición. Ed. Herrero. México DF. Pág. 132.
- Schauenberg P. y Paris F. (1980). "Guía de las Plantas Medicinales" 4ª edición. Ed. Omega. Barcelona España. Pág. 27-32, 68-73, 120-133, 213.
- Schultes E. (1982). "Plantas Alucinógenas". Ed. La Prensa Medica Mexicana. México. Pág. 5, 7, 9.
- Simón W., y Clero T. (1970). "Tablas de Elucidación Estructural de Compuestos Orgánicos Por Métodos Espectroscópicos". Tomo I. 1ª edición. Ed. Alhambra. México. Pág. 321.
- Siebe C., Jahn R., y Sthar K. (1996). "Manual para la Descripción y Evaluación Ecológica de Suelos en el Campo". UNAM. México. Pág. 17, 25, 33.
- Somers E., (1985). "Nociones Básicas de Toxicología". 1ª edición. Centro Panamericano de Ecología Humana y Salud. México. Pág. 7.
- Soto C., y Sousa M. (1995). "Plantas Medicinales de la cuenca del Río Balsas". UNAM. México. Pág. 182.
- Stainer Y., Michael D., y Adelberg E. (1981). "Microbiología". 2ª edición. Ed. Prentice-Hall. Madrid España. Pág. 456-459.
- Stuart W. (2000). "Microbiología". 1ª edición. Ed. McGraw-Hill Interamericana. México. Pág. 333.
- Sydney M., y William J. (1983). "Diagnostico Microbiológico". 6ª edición. Ed. Panamericana. Buenos Aires Argentina. Pág. 428, 606.
- Ticli B. (2005). "El Herbario de la Salud". Ed. De Veceni. Barcelona España. Pág. 34, 35.
- Thomas D., Brock H., y Michael R. (1988). "Biología de Microorganismos" 5ª edición. Ed. Englewood Clifs. New Jersey EUA. Pág. 29, 132.
-

-
- Thompson L. (1978). "El Suelo y su Fertilidad". Ed. Reverte. Buenos Aires Argentina. Pág. 345, 340, 365.
- Trease G., y Evans W. (1987). "Tratado de Farmacognosia". 1ª edición. Ed. Interamericana. México. Pág. 90-92, 309, 369.
- Tyler V., Brady L., y Robbers J. (1979). "Farmacognosia". 2ª edición. Ed. El Ateneo. Buenos Aires Argentina. Pág. 37, 48, 89, 90.
- Umland J. (2000) "Química General". 3ª edición. Ed. Thomson Learning. México DF. Pág. 500, 501.
- Valencia N., Olivier N., Pineda F., y Rosas M. (1993). "Manual de las Plantas Medicinales y Sus Usos Tradicionales en el Ejido Paraíso Tuxtepec Oaxaca". Ed. UAM. México. Pág. 17, 25, 123, 127, 128.
- Valencia S. (1995). "Contribución al Conocimiento del Genero Quercus (Fagáceas) en el Estado de Guerrero, México". 1ª edición. Ed. UNAM. México DF. Pág. 112, 113, 114.
- Vázquez V. (1992). "El Genero Quercus (Fagáceas) en el Estado de Puebla México". Tesis UNAM. México. Pág. 134, 135.
- Vila L. (2004) "Aportes Para el Desarrollo del Sector de Plantas Medicinales y Aromáticas en el Uruguay" (En línea) <http://www.plantasmedicinales.com.ar/fitomediuruguay.html>. (Consulta 8 de noviembre del 2007).
- Villar A. (1999). "Farmacognosia General". 1ª edición. Ed. Síntesis. Madrid España. Pág. 41-48, 66, 178, 225, 231, 233.
- Wren R. (1994) "Enciclopedia de Medicina Herbolaria y Preparados Botánicos" 1ª edición. Tomo I. Ed. Grijalva. México. Pág. 57.
- Youngken W. (1951). "Tratado de Farmacognosia". Ed. Atlante. México. Pág. 456-450.
- Zavala F. (1990). "Los Encinos Mexicanos: Un Recurso Desaprovechado". Revista Ciencia y Desarrollo. Universidad Autónoma Chapingo. México DF. 95 (16); 43-51.
- Zavala F. (2003). "Identificación de los Encinos de México". 2ª edición. Ed. UACH. México. Pág. 23-25.
- Zinsser (1998). "Microbiología". 20ª edición. Ed. Panamericana. Buenos aires Argentina. 59, 592, 593, 680, 710, 928, 1522, 1439.