



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN
NICOLÁS DE HIDALGO**
**FACULTAD DE QUÍMICO
FARMACOBIOLOGÍA**



**“ANÁLISIS NUTRIMENTAL DEL ACEITE
DE *Hibiscus sabdariffa* (JAMAICA)
PRODUCIDO EN EL ESTADO DE
MICHOACÁN”**

TESIS

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

PRESENTA:

P.QFB MAGALI MONSERRAT BECERRA BARAJAS

ASESOR:

DRA. LUCÍA MATILDE NAVA BARRIOS

MORELIA, MICHOACÁN; MARZO 2020

DEDICATORIA

Principalmente a Dios por darme la vida, guiar cada uno de mis pasos y darme la fortaleza para culminar con éxito una etapa más en mi vida.

A mi familia por haberme brindado un ambiente de unidad, amor y alegría, en donde pude desarrollar las mejores cualidades a las que aspira todo ser humano, por su apoyo incondicional en la búsqueda de mi superación profesional.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres Raúl Becerra y Milagros Barajas quienes a lo largo de toda mi vida han apoyado y motivado tanto mi formación académica, como espiritual, creyeron en mí en todo momento y nunca dudaron de mis habilidades.

A mis hermanos Oscar y Luis Ángel y abuelos Esperanza, Raúl y Ana, por cada uno de sus consejos y por su apoyo incondicional.

A mis profesores quienes me transmitieron sus conocimientos, con paciencia y amor a la carrera.

Agradezco al Laboratorio de Neurobiología, de la facultad de QFB-UMSNH, por el apoyo para la realización de la presente de investigación de tesis.

A mi asesora de tesis la DRA Lucia Matilde Nava Barrios por la confianza, el seguimiento constante y sus conocimientos que han contribuido en el desarrollo de esta investigación.

Asimismo a mi comisión de revisores, el DC. Rafael Ortiz Alvarado, QFB. Marcos Alfonso García Castillo, MICCE. Elvira Ramos López, QFB. María Gloria Cornelio Moreno y al QFB. José Agustín Manríquez Espinoza, por la vocación en la orientación de este trabajo.

A mis amigos de siempre Yunuen Hernández y Nadia González que me han acompañado a lo largo de mi vida.

ÍNDICE GENERAL

Dedicatoria.....	II
Agradecimientos.....	III
Índice general.....	IV
Índice de figuras.....	VII
Índice de cuadros.....	IX
Índice de graficas.....	X
Resumen.....	XI
1. Introducción.....	1
1.1 Justificación.....	3
2. Objetivos.....	3
2.1 Objetivo general.....	3
2.2 Objetivos específicos.....	3
<i>Hibiscus sabdariffa (jamaica)</i>	
3. Marco teórico.....	5
3.1 Antecedentes.....	5
3.2 Historia.....	6
3.3 Taxonomía.	9
3.4 Composición química.....	14
3.5 Propiedades terapéuticas.....	19
3.5.1 Propiedades antioxidantes.....	20
3.5.2 Propiedades como hipolipemiente.....	20
3.5.3 Propiedades diuréticas.....	21
3.5.4 Propiedades como hipertensivo.....	22
3.6 Usos y aplicaciones.....	22

Análisis microbiológico

4.1	Introducción.....	27
4.2	<i>Escherichia coli</i>	27
4.2.1	Descripción de la bacteria.....	27
4.2.2	Taxonomía.....	28
4.2.3	Morfología microscópica.....	29
4.2.4	Morfología colonial.....	30
4.2.5	Patogenia.....	31
4.2.6	Diagnóstico del laboratorio.....	39
4.2.7	Tratamiento.....	40
4.3	<i>Staphylococcus aureus</i>	41
4.3.1	Descripción de la bacteria.....	41
4.3.2	Taxonomía.....	42
4.3.3	Morfología microscópica.....	43
4.3.4	Morfología colonial.....	43
4.3.5	Patogenia.....	45
4.3.6	Diagnostico de laboratorio.....	49
4.3.7	Tratamiento.....	49

5. Diseño metodológico

Extracción del aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa*.

5.1	Materiales.....	50
5.2	Método y técnica de preparación para la extracción del aceite de la semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	51

Experimentación del aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa* con bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

5.3	Materiales.....	55
-----	-----------------	----

5.4 Método y técnica de preparación.....	56
6. Observaciones.	
6.1 Preparación de la muestra semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	59
6.2 Extracción del aceite de semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	61
6.3 Experimentación del aceite de semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i> con las bacterias <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Escherichia coli</i>	62
7. Resultados	
7.1 Absorbancias de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> sin aceite.....	66
7.2 Absorbancias de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> con aceite.....	67
7.3 Absorbancias de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> sin aceite.....	68
7.4 Absorbancias de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> con aceite.....	69
7.5 Comparación de las medias de las absorbancias de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> con aceite de semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i> vs sin aceite.....	70
7.6 Comparación de las medias de las absorbancias de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> con aceite de semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i> vs sin aceite....	72
8. Discusión.....	76
9. Conclusiones.....	77
Glosario.....	78
Referencias.....	80
Anexos.....	88

Índice figuras

1.0 Estados productores de <i>Hibiscus sabdariffa</i> en la República Mexicana.....	7
1.1 Municipios productores de <i>Hibiscus sabdariffa</i> en el estado de Michoacán.....	8
2.0 Planta de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	10
2.1 Tallo de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	11
2.2 Hojas de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	11
2.3 Flor de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	12
2.4 Fruto de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	13
2.5 Semillas de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	13
2.6 Contenido químico principal de cálices de <i>H. sabdariffa</i> :1) Delfinidina-3-sambubiósido; 2) Cianidina-3-sambubiósido; 3) Acido protocatéquico; 4) Hibiscetina; 5) Gossipitrina.....	17
2.7 Usos y aplicaciones de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	25
3.0 <i>Escherichia coli</i>	29
3.1 <i>E. coli</i> en sangre.....	29
3.2 <i>E. coli</i> en agar EMB.....	30
3.3 <i>E. coli</i> en agar Mac Conkey.....	30
3.4 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> enteropatógena (ECEP).....	33
3.5 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> enterotoxigénica (ECET).....	34
3.6 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> enteroinvasiva (ECEI).....	35
3.7 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> shigatoxigénica (ECST).....	36
3.8 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> enteroagregativa (ECEA).....	37

3.9 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> adherente difusa (ECAD).....	38
3.10 Mecanismo de virulencia de <i>E. coli</i> adherente invasora (ECAI).....	38
4.0 <i>Staphylococcus aureus</i>	42
4.1 <i>Staphylococcus aureus</i> morfología.....	43
4.2 <i>Staphylococcus aureus</i> pigmento característico y agar chocolate.....	44
4.3 β -hemolisis <i>S. aureus</i> en agar sangre.....	44
4.4 <i>S. aureus</i> sal y manitol agar.....	45
5.0 Equipo soxhlet.....	52
6.0 Limpieza.....	59
6.1 Trituración.....	59
6.2 Polvo.....	60
6.3 Estufa.....	60
6.4 Cartuchos.....	60
6.5 Extracción del aceite de semilla de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	61
6.6 Extracción y reflujo.....	61
6.7 Recolección.....	62
6.8 Medios de cultivo.....	62
6.9 Medios sin aceite.....	63
6.10 Medios con aceite.....	63
6.11 Inoculación.....	64
6.12 Incubación.....	64

6.13 Espectrofotómetro.....	65
-----------------------------	----

Índice de cuadros

1.0 Valores en una porción de 100 gr.....	14
1.1 Composición química de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	15
1.2 Contenido de aminoácidos (mg/g de materia seca) en la flor de Jamaica.....	15
1.3 Composición (mg/100g de materia seca) en macro y micro minerales de la Jamaica.....	16
1.4 Análisis fotoquímico de los extractos de hojas de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	18
2.1 Condiciones de crecimiento de <i>E. coli</i>	28
2.2 Identificación bioquímica de <i>E. coli</i>	39
3.1 Principales factores de virulencia de <i>S. aureus</i>	46
3.2 Propiedades de los factores de virulencia de <i>S. aureus</i>	46
3.3 Perfil bioquímico y características diferenciales de <i>S. aureus</i> , <i>S. epidermis</i> y <i>S. saprophyticus</i>	49
4.0 Absorbancias de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> sin aceite.....	66
4.1 Absorbancias de crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> con aceite.....	67
4.2 Absorbancias de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> sin aceite.....	68
4.3 Absorbancias de crecimiento de <i>Escherichia coli</i> con aceite.....	69
4.4 Comparación de las medias de crecimiento de <i>S. aureus</i> con aceite vs sin aceite.....	70
4.5 Comparación de las medias de crecimiento de <i>E. coli</i> con aceite vs sin aceite...	72

Índice graficas

1. Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> sin aceite.....	66
2. Crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> con aceite.....	67
3. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> sin aceite.....	68
4. Crecimiento de <i>Escherichia coli</i> con aceite.....	69
5. Comparación 1 del crecimiento de <i>S. aureus</i> con aceite vs sin aceite.....	70
6. Comparación 2 del crecimiento de <i>S. aureus</i> con aceite vs sin aceite.....	71
7. Comparación 3 del crecimiento de <i>S. aureus</i> con aceite vs sin aceite.....	71
8. Comparación 1 del crecimiento de <i>E. coli</i> con aceite vs sin aceite.....	72
9. Comparación 2 del crecimiento de <i>E. coli</i> con aceite vs sin aceite.....	73
10. Comparación 3 del crecimiento de <i>E. coli</i> con aceite vs sin aceite.....	73
11. Comparación 4 del crecimiento de <i>S. aureus</i> con aceite vs sin aceite.....	74
12. Comparación 5 del crecimiento de <i>E. coli</i> con aceite vs sin aceite.....	74

RESUMEN

Hibiscus sabdariffa o mejor conocida por su nombre común Jamaica, es una planta que nos aporta; una buena fuente de nutrientes proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales, así como un alto contenido de antocianinas, y propiedades algunas propiedades como antioxidante, diurética, antimicrobiana, antihipertensiva. El cáliz de la planta es la que más se aprovecha debido a su composición y aporte de propiedades, la semilla también contiene ciertos componentes que nos aporta algunos beneficios nutricionales. Realizamos una investigación en la cual se extrajeron los ácidos grasos de la semilla de *Hibiscus sabdariffa*, por el método de soxhlet y se integraron a la mitad de los medios de cultivo preparados (caldo agar soya tripticaseína, en los cuales se inocularon dos microorganismos distintos *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, midiendo el crecimiento por el espectrofotómetro se observó crecimiento normal en ambos medios, pero en comparación, los medios que estaban enriquecidos con el aceite de la semilla, hubo un aumento significativo en el crecimiento. Con lo cual se comprueba que la semilla de *Hibiscus sabdariffa* aporta nutrientes.

Palabras clave: *Hibiscus sabdariffa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, aceite, semilla.

Abstract

Hibiscus sabdariffa or better known by its common name Jamaica, is a plant that gives up; a good source of nutrients proteins, carbohydrates, fats, vitamins and minerals, as well as a high anthocyanin content, and some properties such as Antioxidant, diuretic, antimicrobial, antihypertensive properties. The calyx of the plant is the most used because of its composition and contribution of properties, the seed also contains certain components that gives us some nutritional benefits. We carried out an investigation in which the fatty acids were extracted from the *Hibiscus sabdariffa* seed, by the soxhlet method and they were integrated into half of the prepared culture media (agar broth with trypticasein, in which two different microorganisms were inoculated *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, measuring the growth by the

spectrophotometer normal growth was observed in both media, but in comparison, the media that was enriched with the seed oil, there was a significant increase in growth. *Hibiscus sabdariffa* seed provides nutrients.

Key words: *Hibiscus sabdariffa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, oil, seed.

1. INTRODUCCIÓN

En la siguiente investigación se propuso determinar la calidad nutrimental del aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa* (Jamaica), lo cual nos permitiría caracterizarla y darle un valor agregado, tanto a la semilla como a la planta.

Teniendo en cuenta que la calidad de un alimento se define por; una cantidad de atributos que el consumidor evalúa al momento de elegirlos, donde la composición nutrimental (carbohidratos, proteínas, grasas, fibra, vitaminas y minerales) es la de mayor interés. Actualmente el consumidor también toma en cuenta las propiedades funcionales que el alimento pueda aportar desde un valor nutritivo agregado hasta componentes con actividad fisiología.

Lo cual deriva en la búsqueda de alimentos funcionales, que además de aportarnos los nutrientes habituales también contienen compuestos biológicamente activos (puede ser nutrientes o no) que ejercen efectos beneficiosos en una o varias funciones del organismo, lo cual deriva en una mejora o reducción del riesgo de sufrir enfermedades.

Hibiscus sabdariffa (Jamaica) es una planta que suele ser considerada como una buena fuente de nutrientes, debido a su composición nutrimental rica, distribuida en diferentes porciones de la planta, además de algunas de las propiedades medicinales que se le atribuyen, como antioxidantes, diuréticas, antipertensivas, antiparasitarias, antimicrobianas, hipolipemiantes. La jamaica y sus extractos han sido utilizados en el desarrollo de alimentos funcionales, aunque es el cáliz o la flor la única parte que se aprovecha de esta planta.

Debido a la escasa información sobre las demás partes de la planta de *Hibiscus sabdariffa*, surge el interés de analizar la semilla, saber si esta también cuenta con algún aporte nutrimental, o cuenta con alguna propiedad que aporte beneficios, y si se le puede atribuir alguna otra aplicación además de ser solo utilizada para sembrar.

Para esta investigación se decide trabajar con la semilla de *Hibiscus sabdariffa*, específicamente con los ácidos grasos contenidos en esta, los cuales se fueron

extraídos por el método de soxhlet, que se basa en una extracción solido-líquido, además de ser sencillo, nos ofrece un óptimo rendimiento del aceite,

Se realizan las pruebas del aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa* con algunos microorganismos; cepas de bacterias como *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, observando cómo responden dichos microorganismos a la integración de este aceite a un medio de cultivo líquido y nutritivo caldo de soya tripticaseína. Y evaluar así la interacción del aceite con el microorganismo.

El objetivo de este trabajo es básicamente analizar los ácidos grasos presentes en la semilla de *Hibiscus sabdariffa*, así como su calidad nutricional y si pueden tener alguna posible aplicación.

1. 1JUSTIFICACION

La Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) es una planta con múltiples propiedades que nos aportan beneficios, pero de la cual solo se utiliza el cáliz de la planta, dejando de lado sus demás componentes (hojas, tallos, semillas) en la mayoría de los casos debido a la escasa o nula información sobre las propiedades de las demás partes. Es por ello que surge la necesidad de analizar la semilla de la jamaica, saber si aporta algún beneficio que pudiera llegar a ser de interés para la comunidad. Donde el resultado será un aporte a la investigación, y la capacidad de poder brindarle un valor agregado tanto a la semilla como a la planta de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la calidad nutrimental del aceite de *Hibiscus sabdariffa* (Jamaica), producido en el estado de Michoacán.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar la composición de ácidos grasos en el aceite de *Hibiscus sabdariffa* (Jamaica)
- b) Realizar un análisis espectrofotométrico del aceite de *Hibiscus sabdariffa* (Jamaica).
- c) Probar la calidad nutrimental del aceite de *Hibiscus sabdariffa* (Jamaica), en cepas microbiológicas.

Hibiscus
sabdariffa
(JAMAICA)

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Antecedentes

Una tendencia importante en la industria alimentaria es el desarrollo de productos que no solo sean nutritivos sino que además tengan efectos benéficos en el organismo, tanto para mejorar el estado de salud como para reducir el riesgo de enfermedad. (Sumaya, etc. al. 2014).

La Jamaica y los extractos de esta, se han propuesto como ingredientes para el desarrollo de alimentos funcionales. La parte que más se aprovecha de la planta de Jamaica es el cáliz o flor, en México es consumida tradicionalmente como extracto acuoso para preparar bebidas refrescantes, así como mermeladas, jaleas, licores, harinas para galletas, etc. (Cid, Guerrero. 2012).

Hibiscus sabdariffa, conocida comúnmente como rosa de Jamaica o flor de Jamaica, posee propiedades medicinales, como antioxidantes, hipolipemiantes, diuréticas, antihipertensivas, antiparasitarias, antimicrobianas y ligeramente laxantes.

La Jamaica pertenece a la familia de las malváceas. Su origen se ubica en los países subtropicales de Asia, particularmente India y Malasia, de donde se dispersó hacia algunos países africanos con climas tropicales y subtropicales, así como a Centro y Sudamérica. En México fue introducida por los españoles durante la colonización (SAGARPA-ASERCA, 1999). Los principales países productores de Jamaica son China, India y Sudan. México ocupa el séptimo lugar de esta lista, siendo el estado de Guerrero el mayor productor (INEGI, 2005).

En México el cultivo de la Jamaica presenta una baja industrialización, aproximadamente el 95% del consumo es en forma de cálices deshidratados con un bajo valor en el mercado. (SAGARPA, 2009).

Actualmente solo se cuenta con un proyecto de NORMA MEXICANA PROY-NMX-115-SCFI-2010 PRODUCTOS ALIMENTICIOS PARA CONSUMO HUMANO-FLOR (CALIZ) DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)- ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA.

En este proyecto se establece la definición y la clasificación que se utiliza para la flor (cáliz) deshidratada, que se comercializa en el territorio nacional, así como métodos de evaluación y elaboración en los subproductos destinados al consumo humano.

3.2 Historia

El origen de *Hibiscus sabdariffa* se encuentra en opiniones divididas, algunos autores refieren que es nativa de Asia (India, Malasia) otros mencionan que es originaria de África tropical (Egipto, Sudan, Senegal), lo cierto es que los diferentes usos han permitido que el cultivo de esta se extienda a todo el mundo, México, América del sur y sudoeste de Asia, actualmente se conocen más de 500 especies de *Hibiscus sabdariffa* en el mundo.

A nivel internacional se distinguen seis variedades (diferenciadas por el color, forma, apariencia, peso, fruto y tamaño de la planta) destacándose: sudán, china o morada, roja (larga y corta, americana), negra gigante (nigeriana), morada gigante (tailandesa) y la no ácida (Vietnam) (Meza-Chavarría, 2012).

Las principales variedades que se cultivan en México son: criolla (variedades roja larga, con la mayor superficie cultivada), china, jerzy y sudán (Domínguez-Domínguez et al., 2007).

En México se cultiva desde la época colonial y fue introducida por los españoles durante la colonización. Los principales países productores de Jamaica son China, India y Sudán. (Galicia-Flores, 2008). Siendo Guerrero el principal productor de *Hibiscus sabdariffa* en México aportando más de la mitad de la producción total aproximadamente, seguido de Oaxaca, Michoacán y Nayarit.



Fig. 1 Estados productores de *Hibiscus sabdariffa* en la República mexicana. (Elaboración propia).

En Michoacán los principales productores de flor de Jamaica, en orden de producción son los municipios de La Huacana, Churumuco, Aquila, Tumbiscatio, Música, Turicato y Tzitzio.

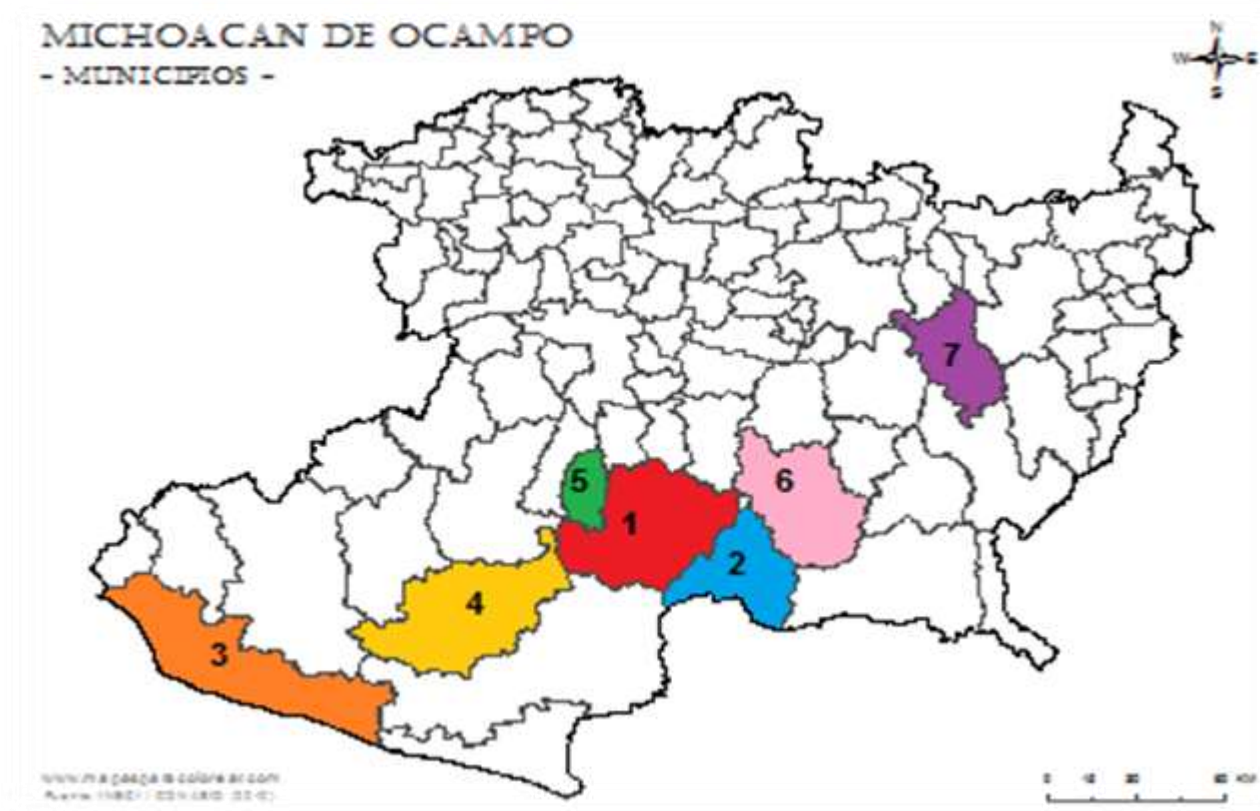


Fig. 1.1 Principales municipios productores de *Hibiscus sabdariffa* en Michoacán. (Elaboración propia).

Los primeros cultivos de esta se realizaron con el fin de obtener la fibra de sus duros tallos, y utilizarla en la elaboración de la arpilleria como sustituto del yute. Posteriormente los cálices de *Hibiscus sabdariffa* fueron utilizados como colorante alimentario y sus hojas verdes como una especie de espinacas que se combinan con otros alimentos en los platillos tradicionales. Y el extracto de los cálices se utiliza principalmente en la preparación de bebidas refrescantes e infusiones o inclusive como corrector de sabores, y ha tenido un fuerte impacto en la industria alimentaria como colorante y saborizante de alimentos, así como en la gastronomía posicionándose como un alimento funcional.

Un cultivo fácil de mantener debido a sus pocas exigencias, adaptándose fácilmente a una gran variedad de suelos. Tiene preferencia por los climas cálidos, secos y subtropicales, pero a pesar de ello se puede acostumbrar bien a inviernos con temperaturas que desciendan hasta 0°C.

3.3 Taxonomía

Hibiscus sabdariffa es un hibisco de la familia de las malváceas, las cuales tienen importancia como flores medicinales, típicas de ambientes cálidos, en regiones tropicales y subtropicales. Entre sus nombres comunes se encuentran rosa de Jamaica, rosa de Abisinia, flor de Jamaica, rosella, en Cuba como agrio de Guinea o saril en Panamá.

❖ **Reino:** *Plantae*.

➤ **División:** *Magnoliophyta*.

▪ **Clase:** *Magnoliopsida*.

• **Subclase:** *Dilleniidae*.

♦ **Orden:** *Malvales*.

➤ **Familia:** *Malvaceae*.

▪ **Subfamilia:** *Malvoideae*.

• **Género:** *Hibiscus*.

• **Especie:** *sabdariffa*.

• **Nombre común:** Rosa o flor de Jamaica



Fig. 2.0 Planta de *Hibiscus sabdariffa*.
(Rebanas, 2017).

Descripción botánica de *Hibiscus sabdariffa*.

Es una planta malvácea anual o bianual, con un periodo vegetativo de cuatro a cinco meses. Se reproduce por autofecundación. Puede alcanzar desde uno hasta tres metros de altura, con ramificaciones y flores de 5 pétalos color rojo en la base aclarándose paulatinamente hasta el otro extremo.

Raíz

Con una raíz cabelluda, grisácea e inodora, no suelen ser muy profundas.

Tallo

Los tallos podemos encontrarlos muy ramificados y cáliz succulento, o tallos rectos sin ramas y a menudo con espinas, generalmente de forma cilíndrica con un diámetro de entre 1,5 a 2 cm, puede ser verde o rojizo generalmente.



Fig. 2.1. Tallo de *Hibiscus sabdariffa*.
(Anónimo, 2016)

Hojas

Sus hojas distribuidas de manera alterna en el largo del tallo, suelen ser verdosas por arriba y amarillas por abajo, lizas, con peciolo largos y erguidos, pueden ser trilobuladas o pentalobuladas, llevando una glandulita en el nacimiento de la nervadura dorsal provisto de estipulas filiformes. Por otro lado, las hojas de la parte inferior suelen ser más pequeñas y flexibles, ovales y simples, dentadas con nervaduras principales de carmín, de sabor ácido ligeramente astringente.



Fig. 2.2 Hojas de *Hibiscus sabdariffa*. (Anónimo, 2014).

Flor

Las flores aparecen individuales, hermafroditas con bractéolas de 8-10 segmentos unidos en la base del cáliz, que es rojizo. Formada por cuatro o cinco pétalos de 4-5 cm de longitud, amarillos o blancos, y tiene una forma cónica, asemejando una pequeña amapola. Cáliz de 2 cm de largo, generalmente carnosos y de color rojo intenso (debido principalmente a su contenido de antocianinas) consiste en cinco largos sépalos con un collar y de ocho a doce hojas delgadas de 3,2 a 5,7cm dispuestas alrededor de la base.



Fig. 2.3 Flor de *Hibiscus sabdariffa*.
(García, 2008).

Fruto

El fruto es una capsula espinosa, de 5 carpelos, de color verde cuando esta inmadura y café cuando está madura y seca, cada capsula contiene entre tres y cuatro semillas.



Fig. 2.4 Fruto de *Hibiscus sabdariffa*.
(Cárdenas, 2017).

Semillas

Pequeñas afelpadas de color café oscuro y con forma de riñón que miden de 3 a 4 milímetros de longitud.



Fig. 2.5 Semilla de *Hibiscus sabdariffa*. (Elaboración propia).

3.4 Composición química

Hibiscus sabdariffa o conocida comúnmente como Jamaica o rosa de Jamaica, es una planta que suele ser considerada como una buena fuente de nutrientes, debido a su composición nutrimental rica en proteínas, carbohidratos, grasas, vitaminas y minerales distribuidas en diferentes porciones de la planta y dependiendo del grado de maduración de los frutos.

Cuadro 1.0 Valores en una porción de 100 gr de *Hibiscus sabdariffa*

VALORES EN UNA PORCIÓN DE 100 g.			
Cálices		Semillas	
Humedad	9.2 g	Humedad	12.9%
Proteínas	1.145 g.	Proteínas	3.29%
Grasa	2.61 g.	Aceite graso	12.9%
Fibra	12.0 g.	Celulosa	16.8%
Cenizas	6.90 g.	Pentosas	15.8%
Calcio	1,263 mg.	Almidón	11.1%
Fósforo	273.2 mg.	Aminoácidos	
Hierro	8.98 mg.	Arginina	3.6 g.
Tiamina	0.117 mg.	Cisteína	1.3 g.
Riboflavina	0.277 mg.	Histidina	1.5 g.
Niacina	3.765 mg.	Isoleucina	3.0 g.
Ácido ascórbico	6.7 mg.	Leucina	5.0 g.
Hojas Frescas		Lisina	3.9 g.
Proteína	1.7-3.2%	Metionina	1.0 g.
Grasa	1.1 %	Fenilalanina	3.2 g.
Carbohidratos	10%	Treonina	3.0 g.
Cenizas	1.0%	Tirosina	2.2 g.
Calcio	0.18%	Valina	3.8 g.
Fósforo	0.04%	Ácido aspártico	16.3 g.
Hierro	0.0054%	Ácido glutámico	7.2 g.
Ácido málico	1.25%	Alanina	3.7 g.
Humedad	86.2%	Glicina	3.8 g.
		Prolina	5.6 g.
		Serina	35. g.

- Composición química de los cálices de *Hibiscus sabdariffa*

La composición en los cálices de Jamaica varia, principalmente, de acuerdo a la variedad, color y diferencias genéticas. En el cuadro 1.1 se presenta la composición química de los cálices de Jamaica, se puede apreciar un contenido importante de

proteína, fibra cruda y ácido ascórbico. Con respecto al contenido de aminoácidos (cuadro 1.2), los cálices de Jamaica aportan la mayoría de los aminoácidos esenciales, a excepción del triptófano (Cid, Guerrero. 2012).

Cuadro 1.1 Composición química de *Hibiscus sabdariffa*.

Elemento	Tipos de cálices				
	Frescos ¹	Rojos ²	Rojo-oscuros ²	Rojos ³	Blancos ³
Humedad (%)	9.20	86.50	85.30	11.00	9.30
Proteína cruda (%)	1.15	17.40*	8.60*	7.88	7.53
Extracto etéreo (%)	2.61	2.10*	2.90*	0.16	0.12
Fibra cruda (%)	12.00	8.50*	9.80*	13.20	12.00
Cenizas (%)	6.90	6.50*	6.80*	10.60	9.50
Carbohidratos (%)	68.15	65.50*	71.90*	57.16	61.55
Ácido ascórbico (mg/100 g)	6.70	63.50	54.80	11.00	15.50
Caroteno (mg/100 g)	0.03	-	-	-	-
Tiamina (mg/100 g)	0.12	-	-	-	-
Riboflavina (mg/100 g)	0.28	-	-	-	-
Niacina (mg/100 g)	3.77	-	-	-	-

Cuadro 1.2 Contenido de aminoácidos (mg/g de materia seca) en la flor de Jamaica.

Tabla IV. Contenido de aminoácidos (mg/g de materia seca) en la flor de jamaica.		
Aminoácidos	Morton (1987)	Glew <i>et al.</i> (1997)
Ácido aspártico	16.30	10.50
Ácido glutámico	7.20	8.85
Prolina	5.60	5.82
Leucina	5.00	4.21
Lisina	3.90	2.77
Glicina	3.80	2.47
Valina	3.80	3.33
Alanina	3.70	3.46
Arginina	3.60	4.48
Serina	3.50	2.65
Isoleucina	3.00	2.70
Treonina	3.00	2.36
Tirosina	2.20	1.44
Histidina	1.50	1.19
Cistina o Cisteína	1.30	0.87
Metionina	1.00	0.65
Fenilalanina	1.00	2.32

Así mismo, la Jamaica es una fuente importante de calcio, magnesio y oligoelementos (cuadro 1.3). Estos últimos compuestos no los puede producir el ser humano, por lo que se deben de obtener de fuentes externas, ya que son necesarios para vivir y preservar la salud, pues intervienen en funciones respiratorias, digestivas, neurovegetativas y musculares, como reguladoras. (Cid, Guerrero. 2012).

Cuadro 1.3 Composición (mg/100g de materia seca) en macro y micro minerales de la Jamaica.

Elemento	Glew <i>et al.</i> (1997)	Babalola <i>et al.</i> (2001)	Ortiz-Márquez (2008)	Cid-Ortega <i>et al.</i> (2010)
Calcio (mg/100 g)	1130.00	1584.00	122.06	1230.00
Fósforo (mg/100 g)	163.00	-	-	-
Magnesio (mg/100 g)	309.00	316.00	4403.87	500.00
Potasio (mg/100 g)	-	2060.00	-	2030.00
Sodio (mg/100 g)	3.83	5.50	-	10.17
Hierro (mg/100 g)	6.14	37.80	224.71	8.82
Manganeso	10.00	-	-	8.77
Cobre	-	-	24.19	0.35
Níquel	-	-	11.51	-
Cobalto	-	-	-	0.19
Zinc (mg/100 g)	2.71	7.50	118.57	1.45

Los principales componentes que se encuentran en los cálices son antocianinas en un 1.5% (delfinidina-3-sambubiósido o hibiscina, cianidina 3-sambubiósido, cianidina 3-monoglucósido, delfinidina 3-monoglucosido), ácidos orgánicos en un 15-30 % que estabilizan a las antocianinas (principalmente ácido cítrico, málico, protocatéquico, tartárico y ascórbico), polisacáridos mucilaginosos en un 50% (ácidos urónicos en forma de sal y el resto ramnosa, arabinosa y pequeñas cantidades de glucosa, xilosa y manosa), flavonoides (principalmente quercetina, gossipitrina, gosipetina, hibiscitrina y su aglicona hibiscetina), saponinas (β -sistosterol- β -D-

galactopiranosido), fitosteroles (β -sistosterol, composterol, ergosterol, estigmasterol), pectina y fibra. (Castañeda, Cáceres. 2014).

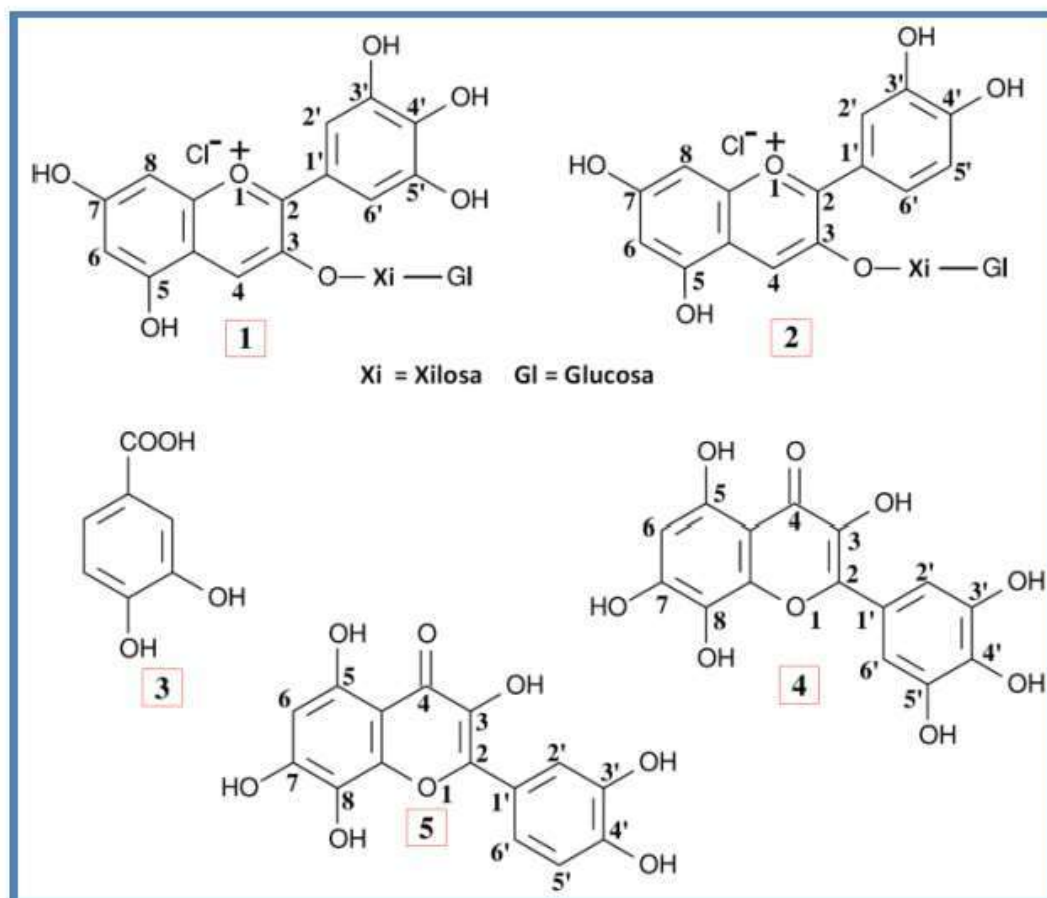


Fig. 2.6 Contenido químico principal de cálices de *H. sabdariffa*: 1) Delphinidina-3-sambubiósido; 2) Cianidina-3-sambubiósido; 3) Acido protocatéquico; 4) Hibiscetina; 5) Gossipitrina. (Castañeda, 2005).

- Composición bioquímica de las hojas y semillas de *Hibiscus sabdariffa*

Por su amplio uso etno-medicinal, no solo de los cálices de la *Hibiscus sabdariffa* han sido objeto de interés de los científicos sino, también las hojas y semillas. (Ramírez, Posada. 2014). En un estudio titulado “propiedades fotoquímicas y actividad

antioxidante de la *Hibiscus sabdariffa* L. se hace referencia a los efectos benéficos de la infusión de las hojas de esta planta para la digestión, como tónico emoliente para eccemas e inflamaciones, para combatir los parásitos intestinales y se afirma que estas son buena fuente de compuestos nutritivos y poseen, al igual que los cálices, un amplio rango de acciones curativas y preventivas como antihipercolesterolemieante, antihiperlipidemiante, hipotensivo, entre otras. (Kumar et al, 2012). En el cuadro 1.4 se presenta la composición fitoquímica en términos ausencia (-)/ presencia (+) de compuestos en los extractos de *Hibiscus sabdariffa*.

Cuadro 1.4 Análisis fotoquímico de los extractos de hojas de *Hibiscus sabdariffa*.

Nº de muestra	Análisis	Extracto acuoso	Extracto en etanol al 95%	Fraccionen en etanoato de etilo
1	Alcaloides	-	-	-
2	Carbohidratos	+	+	+
3	Proteínas	+	+	+
4	Aminoácidos	+	+	+
5	Glucósido	+	+	+
6	Esteroides y esterole	-	+	+
7	Antraquinonas	-	-	-
8	Flavonoides	+	+	+
9	Taninos y otros fenoles	+	+	+
10	Triterpenoides	+	+	+
11	Análisis de saponinas	-	-	-
12	Aceites fijos	-	-	-

Con respecto a la composición química de las semillas de Flor de Jamaica, Cisse et al. 2019., afirman que estas poseen concentraciones relevantes de proteínas, lípidos y azúcares totales. Diversos estudios han demostrado que la semilla de esta planta presenta una composición, incluso más diversa que las de los cálices puesto que además de compuestos fenólicos contiene fitoesteroles, tocoferoles, diversos aminoácidos entre los que destacan el ácido glutámico, la glicina y el ácido aspártico, minerales esenciales y otros compuestos que le otorgan una actividad antioxidante y recolectoras de radicales libres. (Ramírez, Posada. 2014). En un estudio que tenía por objeto evaluar la actividad antioxidante, captura de radicales libres y el contenido fenólico total de otras partes de la *Hibiscus sabdariffa* se halló que las semillas también poseen una gran actividad antioxidante similar a la de los cálices dado que su contenido considerable de compuestos fenólicos y que, además, tiene un gran valor nutricional porque son buena fuente de antioxidantes liposolubles, por lo cual podrían considerarse como alimento funcional. (Mohd-Esa et al, 2010).

Finalmente, las semillas de la Flor de Jamaica poseen grandes propiedades nutricionales debido a que son ricas en un aceite de color amarillo verdoso y contienen fibra dietaria soluble (pectina) e insoluble (Sayago-Ayerdi et al, 2010).

3.5 Propiedades terapéuticas

El potencial farmacológico de los extractos del cáliz de *hibiscus sabdariffa* L. en alteraciones metabólicas como hipertensión, dislipidemia e hiperuricemia, ha sido demostrado in vitro, in vivo y en ensayos clínicos, observándose una estrecha relación con la estabilidad química, en la extracción y almacenaje de los compuestos bioactivos, así como en su comportamiento en los comportamientos biológicos. En vista de sus propiedades farmacológicas, y su alta seguridad reportada, los extractos y sus compuestos aislados podrían ser una fuente de productos terapéuticamente útiles. (Castañeda, Cáceres. 2014).

3.5.1 Propiedades antioxidantes

Actualmente los seres humanos estamos expuestos a un gran número de agentes oxidantes, producto de la contaminación ambiental, situaciones de estrés, inhalación de humo del cigarro y compuestos químicos que se añaden a los alimentos. Por otro lado, como producto de las reacciones químicas el cuerpo produce radicales libres, por lo que si bien ordinariamente son neutralizados por los antioxidantes biológicos, pueden causar oxidación de las membranas para después dañar el ADN, desencadenando una serie de reacciones no deseables que pueden conducir al desarrollo de enfermedades. (Birute-Guzmán, et al., 2009).

Los compuestos fenólicos, como el ácido protocatéquico, que se encuentra en el extracto de las flores de jamaica, tienen fuertes propiedades antioxidantes. El ácido protocatéquico disminuye la peroxidación de lípidos, que es un mecanismo potencial de daño celular. (Carvajal, et al., 2006).

Diversos estudios han evaluado las propiedades antioxidantes de los extractos de jamaica. Ush, et al. (2005) Evaluaron el efecto antioxidante de los extractos etanólicos de flores secas de *Hibiscus sabdariffa* L. en algunos biomarcadores de estrés oxidativo en ratas de raza Wistar. La administración oral del extracto (200 y 300 mg/kg de peso corporal) reduce significativamente la formación de malondialdehído (principal compuesto utilizado como indicador de la peroxidación de lípidos) en el hígado, inducida por el arsenito de sodio, lo que sugiere el papel protector del extracto en contra del daño celular inducido. Así mismo, el tratamiento con los extractos mostro un aumento significativo en el hígado y una disminución en la sangre, de las enzimas dismutasa superóxido y catalasa, lo que indica su eficacia antioxidante y su efecto protector. (Ush, et al, 2005)

3.5.2 Propiedades como hipolipemiente.

Se entiende por hipolipemiente a cualquier sustancia farmacológicamente activa que tenga propiedad de disminuir los niveles de lípidos en sangre. La importancia de estas sustancia viene dada porque el exceso de algunos tipos de lípidos (colesterol o

triglicéridos) o de las lipoproteínas es uno de los principales factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular, principal causa de muerte en los países desarrollados.

Chia-Wen, et al. (2010) demostraron que el extracto de jamaica inhibió el crecimiento de las células musculares lisas de la aorta mediante apoptosis, siendo dependiente de la dosis administrada del extracto de jamaica (0.5 a 6 mg/mL), por lo que puede ser un componente natural útil para prevenir cambios patológicos de la aterosclerosis.

Tzu-Li, et al. (2007) evaluaron el efecto del extracto de *Hibiscus sabdariffa* en la reducción del colesterol en humanos, utilizando una preparación oral de capsulas de extracto de jamaica liofilizado. En este estudio, 42 voluntarios (entre 18 y 75 años con un nivel de colesterol de 175 a 375 mg/dL) fueron observados durante un periodo de 4 semanas. El consumo de capsulas con extracto de jamaica condujo a una disminución significativa en el nivel de colesterol sérico en los sujetos, la observación de niveles bajos de colesterol en suero de jamaica puede ser eficaz en pacientes hipercolesterolémicos.

3.5.3 Propiedades diuréticas

Los alimentos con propiedades diuréticas tiene la capacidad de favorecer la eliminación de líquidos y toxinas del organismo, esta es una de las propiedades de los extractos acuosos de jamaica. (Cid-Ortega, et al. 2012).

Márquez-Viscaino, et al. (2007), llevaron a cabo un estudio en el cual utilizaron extracto de jamaica en diferentes formas: extracto acuoso liofilizado, fracción en etanol liofilizado y extracto total acuoso sin liofilizar; los cuales se administraron en ratas albinas macho. Los tratamientos que presentaron mayor actividad diurética fueron los administrados con 20mg/kg de extracto etanólico liofilizado y extracto total acuoso sin liofilizar, teniendo estos tratamientos un comportamiento similar al control positivo de hidroclorotiazida en la eliminación del volumen de orina. De acuerdo a lo anterior, el extracto etanólico liofilizado en concentración de 20 mg/kg presento el mejor efecto diurético, incluso superior a la hidroclorotiazida en las condiciones ensayadas.

3.5.4 Propiedades como hipertensivo

La hipertensión arterial es una enfermedad crónica en la que aumenta la presión con la que el corazón bombea sangre a las arterias, para que circule por todo el cuerpo.

Entre los principales factores responsables de la hipertensión se encuentran la retención del agua y sodio, así como niveles elevados de dicarbopeptidasa, la cual se conoce como enzima convertidora de la angiotensina, es una enzima proteolítica que convierte la angiotensina I en angiotensina II, esta última causa hipertensión, ya que es un poderoso vasoconstrictor que funciona en el cuerpo controlando la presión arterial.

Diversas investigaciones han evidenciado el efecto hipotensor de los extractos de jamaica, los cuales inhiben la enzima convertidora de la angiotensina II. (Cid-Ortega, et al. 2012).

Se ha reportado que los extractos acuosos de jamaica disminuyen la actividad de la enzima convertidora de angiotensina en un 30%. (Blanquer, et al., 2009).

En un estudio se suministró diariamente a pacientes de 30 a 80 años, una infusión a partir de cálices de jamaica (10 g de flor en 500mL de agua caliente, con un contenido de 9.6mg de antocianinas) antes del desayuno, durante semanas. Los resultados mostraron una disminución en la hipertensión. (Herrera-Arellano, et al., 2004).

Además, se evidenció un aumento en la eliminación de sodio urinario, así como una reducción de la actividad en la actividad de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), lo anterior demuestra el efecto del extracto como diurético y como inhibidor de la ACE. (Herrera-Arellano, et al, 2007).

3.6 USOS Y APLICACIONES

La Flor de Jamaica no solo es útil por sus efectos terapéuticos sino por su potencial industrial, ya que de ella se derivan diferentes productos tanto del sector alimenticio,

como del textil, farmacéutico y cosmético. Desde el punto de vista mercadológico, el cultivo de la Flor de Jamaica se ha convertido en una alternativa de producción dentro de los países en vías de desarrollo y, aunque a nivel internacional ya existen reportes de mercado en los cuales se ha determinado la oferta y demanda de este producto, a nivel nacional y regional no existen reportes de este tipo. (Ramírez, Posada. 2014).

- Industria alimentaria

La flor, en especial sus cálices, es la parte más comercial de la planta, se utiliza en la preparación de bebidas, como té, licores, refrescos, jarabes y bebidas refrescantes; como la tradicional agua de jamaica y algunos vinos. Así como en la preparación de dulces, barras energéticas. En distintas regiones se preparan mermeladas con los cálices y se encuentran en el comercio algunos concentrados de Flor de Jamaica ya sea en forma líquida o de harinas para la preparación de bebidas instantáneas y en sobres para preparar infusiones. (Ramírez, Posada. 2014).

Las hojas tiernas de la flor de jamaica se pueden consumir en ensaladas y junto a los tallos tiernos y cálices en la preparación de sopas y salsas. (Rodríguez, 2019).

Suele ser usada como colorante natural en la tinción de algunos alimentos. Y actualmente de gran importancia en la gastronomía, en la elaboración de platillos tradicionales.

Las semillas suelen ser utilizadas como alimento de engorda para pollos (Soriano, Tejada, 1995) y otros animales de granja.

Un grupo de estudiantes del Instituto Tecnológico Superior de Calkiní, en Campeche, logro obtener café orgánico con semillas de jamaica, destacando las ventajas que encontraron en el café que obtuvieron es que no tiene cafeína, por lo que podría ser consumido por personas con diabetes e hipertensión, ya que no causa estrés, incluso lo podrían tomar mujeres embarazadas por el alto contenido de proteínas. (Rev Yucatán, 2016).

Entre los productos pertenecientes a la industria alimenticia podemos encontrar principalmente alimentos, bebidas y el aceite extraído de las semillas. (Ramírez, Posada. 2014).

- Colorante

Los colorantes presentes en la rosa de jamaica presentan una estabilidad similar a la que tiene el colorante artificial Rojo No. 40, por lo que puede ser utilizada como alternativa de consumo en sustitución de este. (Arriaga, 2007).

En la industria de los químicos para la tinción de alimentos, cosméticos y textiles encontramos el uso de los extractos de las flores de *Hibiscus sabdariffa* en la elaboración de colorantes naturales para las mermeladas, gelatinas y otros alimentos, telas labiales y rubores, entre otros. (Ramírez, Posada. 2014).

- Fibra para textiles y papeles

La fibra obtenida de los tallos enteros de la *Hibiscus sabdariffa* se emplea en la fabricación de cuerdas, costales, canastas y mallas, de acuerdo con Martínez (1992), de la fibra de los tallos de Flor de Jamaica se obtiene una fibra que puede sustituir al yute, con un alto porcentaje de celulosa y sin gomas ni resinas que también puede constituir un buen material para la fabricación de papel.



Fig. 2.7 Usos y aplicaciones de *Hibiscus sabdariffa*. (Elaboración propia).

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

4.1 INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas se han hecho importantes avances en el estudio de la ultraestructura bacteriana, lográndose una identificación bioquímica de muchas fracciones subcelulares y el conocimiento de las diferentes estructuras y composición ha permitido comprender como muchas bacterias se relacionan con el hombre, ya sea como integrantes de la flora normal o como agresoras para el mismo. El descubrimiento de que muchas estructuras bacterianas bien identificadas son inmunógenos importantes, permitió el desarrollo de vacunas que han sido verdaderos avances en la medicina de los últimos años.

El conocimiento de la composición bioquímica de las diferentes estructuras bacterianas, junto al conocimiento del metabolismo bacteriano, permite hoy la comprensión del mecanismo de acción de los diferentes antibióticos.

4.2 *Escherichia coli*

4.2.1 Descripción de la bacteria

Escherichia coli es una bacteria gramnegativa con forma de bacilo de la familia de enterobacterias que se encuentra presente en el tracto gastrointestinal de humanos y animales, siendo la gran mayoría, inocuas de ellos.

E. coli es la bacterias anaerobia facultativa comensal más abundante de la microbiota, siendo inofensiva para el ser humano; sin embargo hay algunas cepas de *E. coli* productoras de toxinas, llamadas verotoxinas o toxinas tipo shiga que pueden causar cuadros gastrointestinales, transmitidas al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados.

Reservorio

Los rumiantes, y en particular el ganado bovino y ovino, son el principal reservorio de estas bacterias. Otros animales como las cabras, los cerdos, los caballos, las aves de corral, los perros y los gatos pueden actuar también como reservorio. Los

animales portadores no muestran ningún signo clínico y eliminan las bacterias *E. coli* por las heces.

Condiciones de crecimiento

Escherichia coli es un microorganismo es versátil y poco exigente, se adapta muy bien a su ambiente. Es aerobio facultativo y es un fermentador de glucosa y lactosa con producción de gas por lo que requiere un medio con glucosa.

Estas bacterias se multiplican a temperaturas entre 6 y 50°C, son capaces de crecer en medios aerobios y anaerobios, con una temperatura optima de alrededor de 37°C, son termoresistentes, pero se pueden eliminar con un tratamiento térmico a 65° C.

Cuadro 2.1 Condiciones de crecimiento de *E. coli*.

	Mínimo	Optimo	Máximo
Temperatura	7-8	35-40	46
pH	4.4	6-7	10
Actividad del agua	0.95	0.9995	---

4.2.2 Taxonomía

❖ **Dominio:** *Bacteria*.

➤ **Filo:** *Proteobacteria*

▪ **Clase:** *Gammaproteobacteria*.

• **Orden:** *Enterobacteriales*.

➤ **Familia:** *Enterobacteriaceae*.

• **Género:** *Escherichia*.

• **Especie:** *E. coli* (*E. freundii*)).



Fig. 3.0 *Escherichia coli*. (Kon, 2018).

4.2.3 Morfología microscópica

- ✧ Bacilo.
- ✧ Gram negativo.
- ✧ No forma esporas.
- ✧ Móviles (flagelos peritricos).
- ✧ Miden 0.5 μ de ancho por 3 μ de largo.
- ✧ Fermentadora de lactosa, glucosa y sacarosa.
- ✧ Produce vitamina B y K.

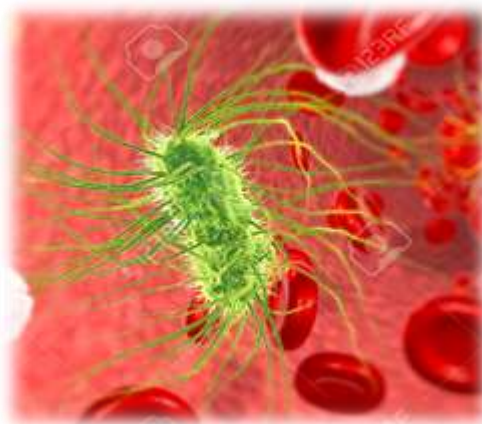


Fig. 3.1 *E. coli* en sangre. (Kon, 2018).

4.2.4. Morfología colonial

Las colonias *Escherichia coli* varían según el medio de cultivo donde crezcan.

Cultivada en agar eosina azul de metileno (EMB) se logran ver colonias aisladas de entre 2-4 mm de diámetro, medianas, circulares, convexas, moradas, con un centro grande de color oscuro o incluso negro y presentan un brillo verde metálico característico de *E. coli*, aunque es importante saber que hay otras bacterias que logran producir este color, suele ser muy tenue y escaso.



Fig. 3.2 *E. coli* en agar EMB. (Archarya, 2013).

Las colonias de *E. coli* en agar MacConkey son aisladas, medianas, circulares, convexas, bordes redondeados, lactosas positivas lo que des a la coloración rosada.



Fig. 3.3 *E. coli* en agar MacConkey. (Makprasert, 2016).

4.2.5 Patogenia

Escherichia coli es un bacilo gram-negativo que coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se le considera un microorganismo de flora normal, pero hay cepas que pueden ser patógenas y causar daño produciendo diferentes cuadros clínicos, infecciones de diversa severidad en el intestino, vías urinarias, meningitis, sepsis, entre otras.

Estructura antigénica.

- Constitución polisacárido.
 - Antígeno capsular (antígeno K).
 - Antígeno somático (antígeno O).
- Constitución proteica.
 - Antígeno flagelar (antígeno H).
 - Antígenos menores como proteínas de membrana externa y fimbrias.

Determinantes de patogenicidad

1. Adhesinas: son moléculas que median la capacidad de interacción de la bacteria con los enterocitos. Se dividen en varios tipos moleculares:
 - Factores antigénicos de colonización (CFA): CFA/I a CFA/III.
 - Fimbrias de adherencia agregativa (AAF): AAF/I y AAF/II.
 - Proteína formadora de lazos/uniones (Bpf): es una fimbria especial laxa. Mediante esta molécula la bacteria se abraza a la célula diana, se aproxima y se une a ella.
 - Intimina.
 - Proteína Ipa: permite la fijación y la posterior invasión, es una proteína de origen plasmidico.
2. Toxinas: solo producidas en algunas bacterias.
 - Enterotoxinas citotónicas termolábiles (LT): LT-I y LT-II.
 - Enterotoxinas citotónicas termoestables (ST): STa y STb.
 - Enterotoxinas citotóxicas (STx): STx-1 y STx-2. Estas toxinas son propias de *Shigella* y destruyen los enterocitos.

Clasificación

La identificación serológica de los distintos tipos de cepas de *E. coli* tuvo un papel relevante en su clasificación previo al uso de factores genéticos de virulencia. En 1994, Kauffman propuso un esquema de serotipificación que continuamente varía y que se usa hoy en día con el fin de diferenciar los tipos comensales de los patógenos y los distintos tipos de estos últimos.

El esquema de clasificación de Kauffman usa la identificación serológica de sus antígenos O (del lipopolisacárido, LPS), H (flagelares) y K (de la envoltura y capsula termoestables y termolábiles). Actualmente tiene 176 antígenos somáticos (O), 112 flagelares (H) y 60 capsulares (K). El antígeno “O” es el responsable del serogrupo; la determinación del antígeno somático y flagelar (O: H) indica el serotipo, el cual en ocasiones se asocia con un cuadro en particular (Rodríguez – Ángeles, 2002).

Los serotipos de *Escherichia coli* son determinados por combinaciones específicas de los antígenos O y H.

Con los avances de las técnicas de decodificación genética, las cepas de *E. coli* productoras de diarrea en el hombre se han clasificado según el factor genético que define su virulencia y el cuadro clínico asociado, configurando diferentes tipos patogénicos *E. coli* enteropatógena (ECEP), *E. coli* enterotoxigénica (ECET), *E. coli* enteroinvasora (ECEI), *E. coli* shigatoxigénica (ECST), *E. coli* enteroagregativa (ECEA), *E. coli* adherente difusa (ECAD) y *E. coli* adherente invasora (ECAI).

☀ *E. coli* enteropatógena (ECEP)

Se caracteriza por adherirse a la mucosa del intestino, principalmente en menores de dos años, produciendo lesiones distintivas en dicho epitelio. No produce las toxinas termoestables (ST) ni termolábiles (LT), pero utilizan a proteína intimina, una adhesina, para adherirse a las células intestinales. Produce una lesión característica denominada “adhesión y eliminación”, destruyendo las microvellosidades intestinales

Las fases del proceso patogénico de la ECEP son: adherencia inicial, inyección de factores y transducción de señales; contacto íntimo.

Fig. 3.4 Mecanismo de virulencia de *E. coli* enteropatógena (ECEP).
(Farfán, et al. 2016).

Es uno de los agentes más frecuentemente identificados en diarrea aguda. La ECET se caracteriza por producir al menos una de dos toxinas: la enterotoxina resistente al calor (ST) y la enterotoxina termolábil (LT), se adhiere y coloniza el intestino delgado gracias a fimbrias o pili de distinto tipo, que le permiten adherirse a los eritrocitos y luego secretar las toxinas descritas.

El cuadro clínico en humanos puede ser una diarrea infantil o la diarrea del viajero, especialmente en temporada cálida y húmeda. Generalmente es leve y autolimitada, pero puede llegar a ser letal en niños pequeños, si la hidratación no compensa las grandes pérdidas hídricas que puede producir la ECET.

Cada cepa tiene estructuras en su superficie, necesarias para la adhesión, denominados factores de colonización y que en ECET son llamados antígenos de superficie coli (CSs: Coli Surface antigens), antígenos de los factores de colonización (CFAs: colonization factor antigens) o un PCFs (putative colonization factors). De estas estructuras fimbriales, afimbriales, helicoidales o fibrilares, hasta la fecha se conocen aproximadamente 25, en su mayoría codificados en plásmidos de virulencia. En ECET son dos los principales mecanismos de patogenicidad: adherencia y toxinas. (Farfán, et al. 2016).

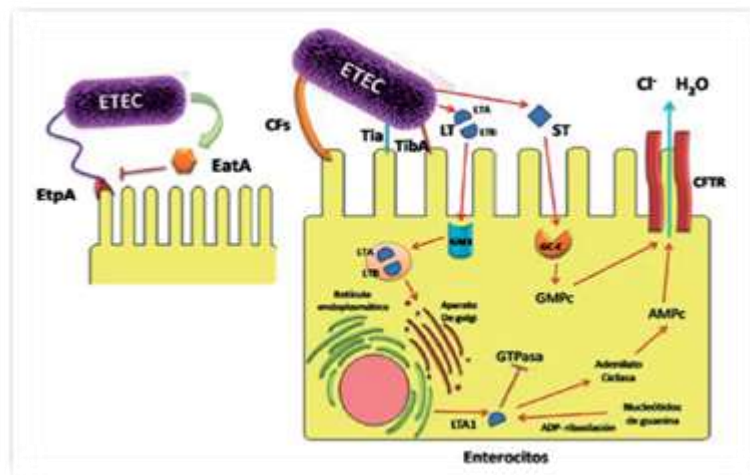


Fig. 3.5 Mecanismo de virulencia de *E. coli* enterotoxigénica (ECET). (Farfán, et al. 2016).

☀ *E. coli* enteroinvasora (ECEI)

Los síntomas característicos en personas infectadas por ECEI son diarrea acuosa, con sangre, moco y dolor abdominal, pero en algunos casos solo se presenta diarrea, lo cual la hace indistinguible de la producida por ECET y menos grave que la causada por *Shigella*. Las cepas de ECEI se asocian más a brotes que a casos

aislados, en los que la transmisión puede ser de persona a persona, por ingestión de alimentos y agua contaminada, convirtiéndose en un patógeno importante en niños sobre seis meses de edad. (Farfán, et al. 2016).

El mecanismo de patogenicidad de ECEI es la invasión del epitelio del colon; para ello el primer paso es la adherencia de la bacteria a las vellosidades de la mucosa requiriendo de mucinasa y adhesinas, para después entrar por endocitosis a la célula y diseminación a células sanas adyacentes. La información genética para este mecanismo esta en loci del cromosoma y del plásmido, además de tener la capacidad de elaborar una o más enterotoxinas que pudieran ser importantes en la producción de diarrea. (Rodríguez, 2002).

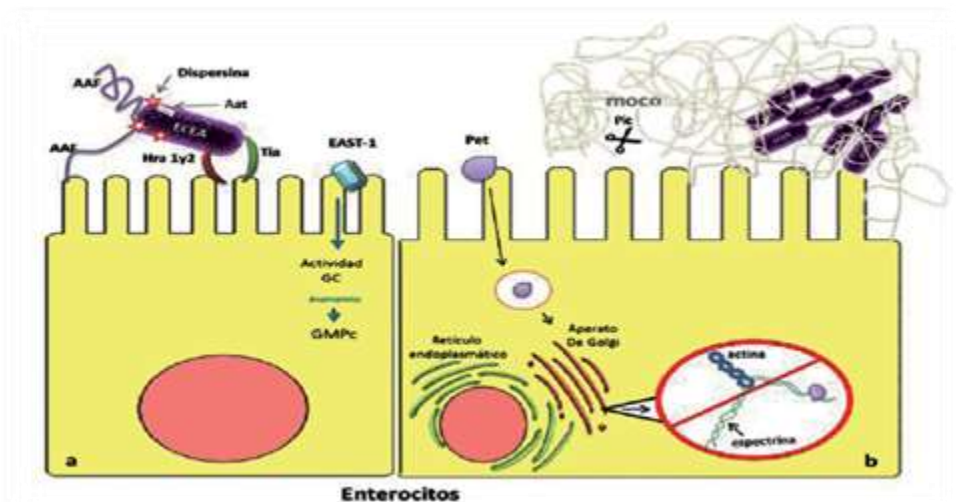


Fig. 3.6 Mecanismo de virulencia de *E. coli* enteroinvasora (ECEI).
(Farfán, et al. 2016).

☀ *E. coli* shigatoxigénica (ECST)

Este patógeno se caracteriza por inducir una o más toxinas Shiga (Stx) similares a las producidas por *Shigella dysenteriae* tipo I, por lo que se les denomina shigatoxigénica. También se han descrito como *E. coli* enterohemorrágica y *e. coli* verotoxigenica debido a la producción de una toxina con efecto citotóxico sobre las células vero. ECST es un patógeno de carácter zoonotico de gran importancia en

salud pública, que causa dolor abdominal, diarrea sanguinolenta y poca fiebre. El principal agente etiológico del síndrome hemolítico urémico SHU. (Farfán, et al. 2016).

Esta cepa no fermenta el sorbitol y posee un fago, donde se encuentran codificadas las verotoxinas, no posee una fimbria formadora de mechones, en vez de esto posee una fimbria polar larga que se usa para adherencia.

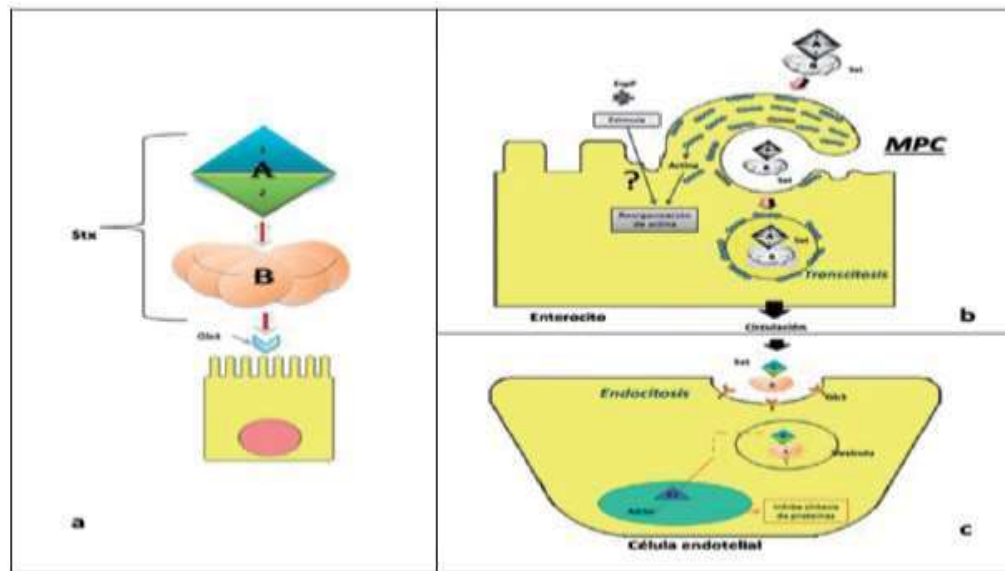


Fig. 3.7 Mecanismo de virulencia de *E. coli* shigatoxigénica (ECST). (Farfán, et al. 2016).

☀ *E. coli* enteroagregativa (ECEA)

Solo encontradas en humanos. Son llamadas enteroagregativas por la presencia de una fimbria o adhesina flexible llamada fimbria I de adherencia agregativa (AAF/I) con las que aglutinan causando diarrea acuosa sin fiebre. No son invasivas. Producen hemolisina y una enterotoxina (ST) similar a las enterotoxigénicas, se les asocia dos toxinas: toxina termoestable enteroagregante (EAST) y la toxina codificada por plásmidos (PET).

En el mecanismo de patogenicidad de ECEA están implicadas las bacterias y diversas moléculas que ella produce; también se sabe que las cepas de ECEA tiene

la capacidad de incrementar en la mucosa a producción y secreción de moco que atrapa a las bacterias que se autoaglutinan en una fina película en el epitelio intestinal. La producción de moco puede estar relacionada con la capacidad de ECEA para colonizar persistentemente el intestino y causar diarrea. (Rodríguez, 2002).

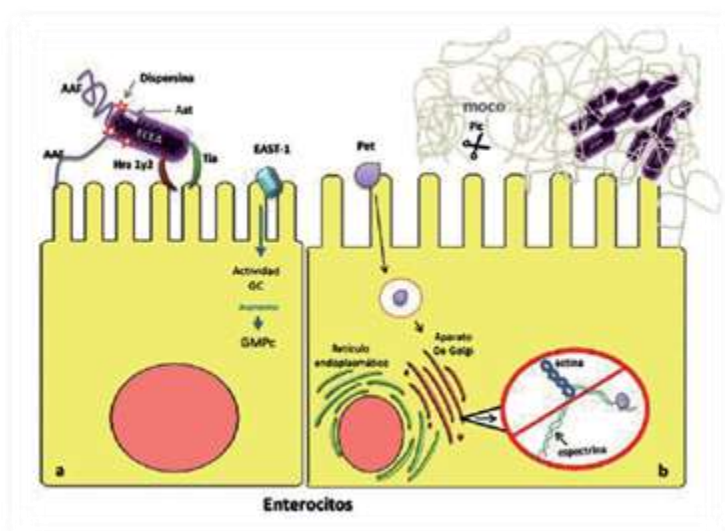


Fig. 3.8 Mecanismo de virulencia de *E. coli* enteroagregativa (ECEA). (Farfán, et al. 2016).

☀ *E. coli* adherente difusa (ECAD)

Estas cepas se han asociado más a procesos diarreicos de tipo agudo y persistente en niños y adultos, los adultos y niños pueden ser portadores asintomáticos.

Se conoce poco de los mecanismos de patogenicidad de ECAD a pesar de su amplio estudio. Dentro de las principales características observadas en la patogénesis de ECAD están las siguientes:

- Unión mediante adhesinas a la mucosa intestinal.
- Formación de microcolonias típicas en forma de ladrillos apilados.
- La producción de citotóxicas y enterotoxina.
- El desarrollo de una inflamación grave de la mucosa.

(Farfán, et al. 2016).

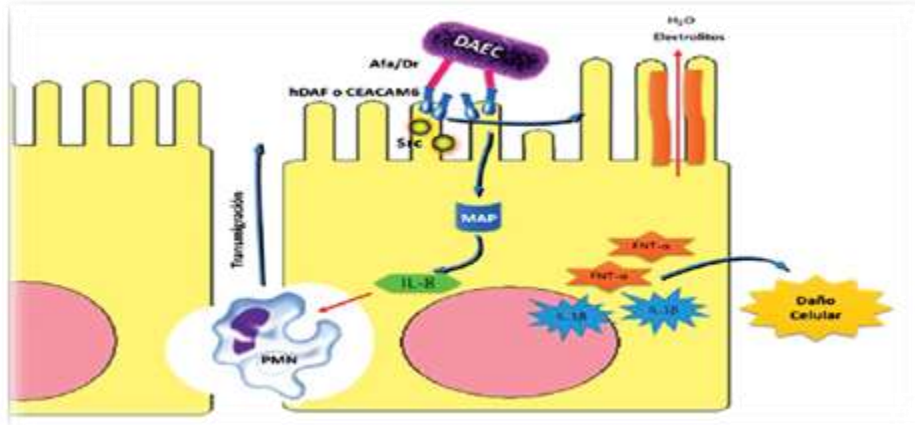


Fig. 3.9 Mecanismo de virulencia de *E. coli* adherente difusa (ECAD). (Farfán, et al. 2016).

☀ *E. coli* adherente invasora (ECAI).

La enfermedad de Crohn (EC) es una de las enfermedades inflamatorias del intestino, asociada a la presencia en el lumen intestinal de ECAI. Es muy frecuente en el íleon; sin embargo, el proceso inflamatorio puede ocurrir en todo el tracto gastrointestinal. *Escherichia coli* adherente invasora se aísla con más frecuencia en la mucosa intestinal de pacientes con EC que en sanos. Dentro de las principales características de la patogenicidad están la adhesión epitelial, la invasión, la supervivencia dentro de los macrófagos y la formación de biopelículas. (Farfán, et al. 2016).

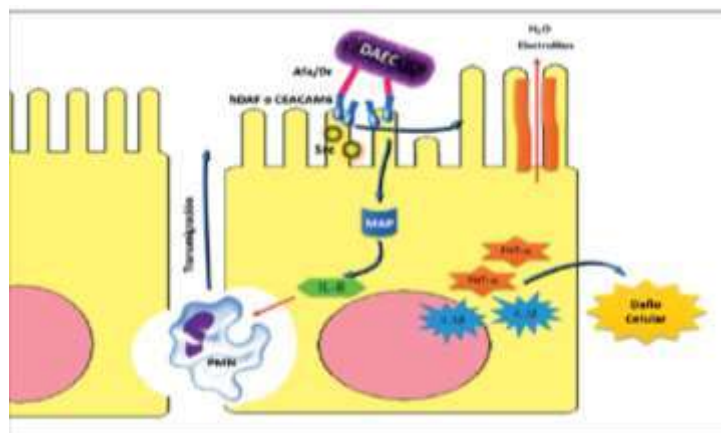


Fig. 3.10 Mecanismo de virulencia de *E. coli* adherente invasora (ECAI). (Farfán, et al. 2016).

4.2.6 DIAGNOSTICO DEL LABORATORIO

Escherichia coli se aísla de heces en medios como Mac Conkey o eosina azul de metileno (EMB), estos permiten la diferenciación de las bacterias intestinales por sus características morfológicas y de afinidad a la lactosa. Para la identificación de la bacteria a nivel de especie, se utilizan métodos automatizados (Vitek). Para la tipificación serológica de *e. coli* se identifican los antígenos: somático, flagelar y capsular. (Molina, Eslava, 2015).

El uso de técnicas de recombinación genética, que permiten el desarrollo de sondas moleculares para la identificación de secuencias de genes relacionados con la producción de factores de patogenicidad de enterobacterias.

Y la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Cuadro 2.2 Identificación bioquímica de *E. coli*

Prueba bioquímica	% de positividad	Prueba bioquímica	% de positividad
Oxidasa	0	Producción de indol	98
Rojo de metilo	99	Voges-Proskauer	0
Citrato de Simmons	1	H_2S (TSI)	1
Hidrolisis de urea	1	Utilización de malonato	0
Ácido de glucosa	95	Gas de glucosa	100
Fenilalanina desaminasa	0	Lisina descarboxilasa	0
Arginina dihidrolasa	17	Ornitina descarboxilasa	65
Movilidad a 36°C	95	Hidrolisis de gelatina a 22°C	0
KCN crecimiento en	3	Fermentación de lactosa	95
Fermentación de sacarosa	50	Fermentación de D-manitol	98
Fermentación de D-	94	Fermentación de mucato	95

sorbitol			
Fermentación de dulcitol	60	Fermentación de adonitol	5
Fermentación de salicina	40	Fermentación de inositol	1
Fermentación L-arabinosa	99	Fermentación de la rafinosa	50
Fermentación de L-ramnosa	80	Fermentación de maltosa	95
Fermentación de D-xilosa	95	Fermentación de trealosa	98
Fermentación de celobiosa	2	Fermentación de α -metil-D glucósido	0
Fermentación de eritritol	0	Hidrolisis de la esculina	35
Fermentación melobiosa	75	Fermentación D-arabitol	5
Fermentación D-manosa	98	Fermentación de glicerol	75
Nitrito a nitrato	100	Tartrato de Jordán	95
Utilización de acetato	90	Lipasa(aceite de maíz)	0
DNasa a 25°C	0	ONPG	95

4.2.7 TRATAMIENTO

El uso de antibióticos es poco eficaz y casi no se prescribe, ya que pueden aumentar el riesgo de complicaciones graves. Para la diarrea se sugiere el consumo de abundante líquido y evitar la deshidratación. Cuando una persona presenta diarrea no debe ir a trabajar o asistir a lugares públicos para evitar el contagio.

4.3 Staphylococcus aureus

4.3.1 Descripción de la bacteria

Staphylococcus aureus es un microorganismo de gran importancia médica. Desde hace muchos años se le ha reconocido como uno de los principales agentes patógenos para el humano. *S. aureus* forma parte de la familia *Micrococcaceae*, genero *Staphylococcus*, el cual contiene más de 30 especies diferentes y muchas de estas son habitantes naturales de la piel y las membranas mucosas del hombre. (Bustos, Hamdan, Gutiérrez, 2006).

El género *Staphylococcus* está formado por cocos gram-positivos, con un diámetro de 0.5 a 1.5 μm , agrupados como células únicas, en pares, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Ogsto introdujo el nombre de *Staphylococcus*, del griego *staphyle* que significa racimo de uvas, para describir a los cocos responsables de inflamación y supuración. Son bacterias no móviles, no esporuladas, no poseen capsula, aunque existen algunas cepas que desarrollan capsula de limo, son anaerobias facultativas. La mayoría de los estafilococos producen catalasa, característica que se utiliza para diferenciar el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus* que son catalasa negativos. (Cervantes, et al. 2014).

Reservorio

Staphylococcus aureus es un agente patógeno muy resistente en el medio ambiente y ampliamente distribuida en la naturaleza, pero su principal reservorio son los animales y seres humanos.

Es considerado como parte de la microbiota normal, se encuentra en la piel y vías respiratorias superiores del individuo sano, aunque tiene colonización selectiva de fosas nasales, pliegues intertriginosos, perineo, axilas y vagina. Expresado longitudinalmente, cerca del 30% de la población puede ser portador permanente, el 50% portador intermitente y el 20% no es colonizado.

También se encuentra en mamíferos, aves, alimentos y agua.

Condiciones de crecimiento

Su crecimiento se desarrolla entre los 7°C hasta los 47.8°C, teniendo su óptimo crecimiento en 35°C. Con respecto al pH, su intervalo de crecimiento se encuentra en 4.5 y 9.3, estando su estado óptimo entre 7.0 y 7.5. Nutricionalmente no son exigentes, creciendo en medio pobres o simples. Son aerobios, anaerobios facultativos.

Así mismo, sus toxinas son altamente termoestables y resistentes al calor e irradiación, por lo que una vez formadas en el alimento, es extremadamente difícil de eliminarlas.

4.3.2 Taxonomía

❖ **Dominio:** *Bacteria*.

➤ **Filo:** *Firmicutes*.

▪ **Clase:** *Bacilli*.

• **Orden:** *Bacillales*.

➤ **Familia:** *Staphylococcaceae*.

• **Género:** *Staphylococcus*.

• **Especie:** *S. aureus*

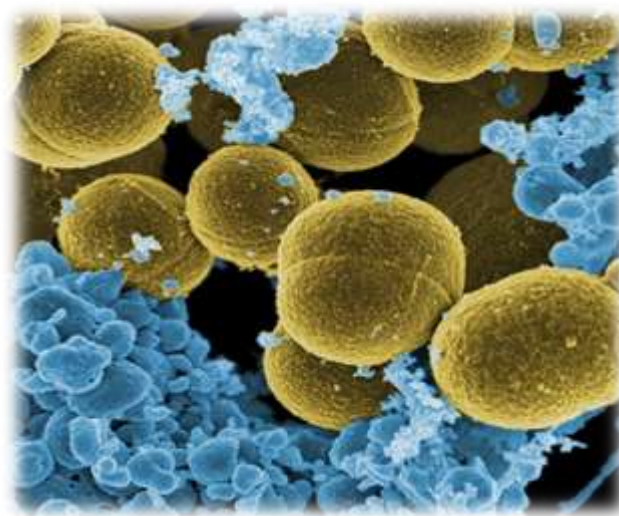


Fig. 4.0 *Staphylococcus aureus*. (Anónimo, 2008).

4.3.3 Morfología microscópica

- ✱ Cocos gram positivos.
- ✱ 0.5 a 1.5 μm de diámetro.
- ✱ Pueden agruparse en pares, en cadenas o en racimos.
- ✱ No móviles.
- ✱ No esporuladas.
- ✱ No poseen capsula
- ✱ Son catalasa positivos.
- ✱ Oxidasa negativos.
- ✱ Pueden fermentar carbohidratos.

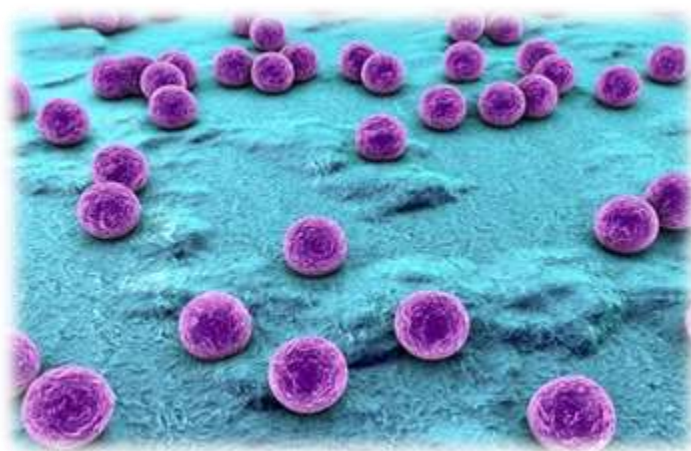


Fig. 4.1 *Staphylococcus aureus* morfología. (Kon, 2018).

4.3.4 Morfología colonial

S. aureus crece bien en medios de cultivo no selectivos, como el agar sangre, agar chocolate, cerebro corazón infusión agar (BHI, por sus siglas en ingles) y medios líquidos para hemocultivo donde se recupera fácilmente. (Cervantes, et al. 2014).

En medios no selectivos, *S. aureus* presenta colonias de 1 a 3 mm de diámetro, lisas, levemente elevadas, brillantes, de bordes enteros, levemente convexas, presentan consistencia cremosa y generalmente pigmentadas por un color que puede ir desde el amarillo a dorado debido a la producción de carotenoides. La producción de

pigmento se ve favorecida si se incuban los cultivos por 24 a 48 horas adicionales a temperatura ambiente.



Fig. 4.2 *Staphylococcus aureus* pigmento dorado característico y en agar chocolate. (#1 McGraw-Hill. 2014) (#2 Shutterstock, 2015).

La mayoría de las cepas cuando crecen en agar sangre ovina se puede observar una zona de β -hemolisis o hemolisis total alrededor de las colonias.



Fig. 4.3 β -hemolisis *S. aureus* en agar sangre. (Microbiología Clínica, 2019).

El medio recomendable usado por la mayoría de los laboratorios es el agar sal y manitol o medio de Chapman por su elevado contenido de sal que inhibe el crecimiento de la mayoría de las bacterias gram-negativas. Este medio permite

realizarla identificación presuntiva de *S. aureus* por la pigmentación amarilla característica. Debido a que esta bacteria fermenta el manitol se genera un cambio de color en el medio que vira de rojo pálido a amarillo. (Cervantes, et al. 2014).



Fig. 4.4 *S. aureus* sal y manitol agar.
(Microbeonline, 2013).

4.3.5 PATOGENIA

Staphylococcus aureus posee un alto grado de patogenicidad y es responsable de una amplia gama de enfermedades. Produce lesiones superficiales de la piel y abscesos localizados en otros sitios. Causa infecciones profundas como osteomielitis y endocarditis. Es causante de infecciones respiratorias como neumonía, infecciones del tracto urinario y es la principal causa de infecciones nosocomiales. Provoca intoxicación alimentaria al liberar sus endotoxinas en los alimentos y produce el síndrome del shock toxico al liberar superantígenos en el torrente sanguíneo. Además causa septicemia, impétigo y fiebres. (Bustos, et al, 2006).

Factores de virulencia

Staphylococcus aureus produce una gran variedad de proteínas que contribuyen a su capacidad para colonizar y causar enfermedades en el ser humano. Casi todas las cepas de *S aureus* producen un grupo de enzimas y citotoxinas. (Bustos, et al, 2006).

Los mecanismos patógenos de este microorganismo dependen de sus factores adhesivos, las toxinas y enzimas estafilocócicas y su defensa contra la inmunidad.

Cuadro 3.1 Principales factores de virulencia de *S. aureus*.

Estructurales	Enzimas	Toxinas
Peptidoglucano	Catalasa	Hemolisina (α , β , γ y δ)
Proteína A	Hialuronidasa	Leucocidina de Pantone-Valentine (PVL)
Factores de adhesión	Lipasas	Enterotoxinas estafilocócicas (SE)
Ácidos teicoicos	Coagulasa	Toxina 1 del síndrome shock toxico (TSST-1)
Polisacáridos capsulares	DNAsas y proteasas	Toxinas exfoliativas (ETA y ETB)
Capsula		

Cuadro 3.2 Propiedades de los factores de virulencia de *S. aureus*.

Factor de virulencia	Propiedades
Componentes de la pared celular	
Peptidoglucano	Activación del complemento.
Ácidos teicoicos	Mediación de la adherencia del estafilococo a fibronectina.
Proteína A	Protección contra la inmunidad humoral Fija anticuerpos por la porción Fc.
Capsula	Es una adhesina, impide la quimiotaxis y la fagocitosis, inhibe la proliferación de las células mononucleares.
Polisacáridos extracelulares	Facilita la adherencia a los cuerpos extraños.

Factores de adhesión	Permiten la unión de <i>S. aureus</i> con fibronectina, fibrinógeno, elastina y colágeno.
Enzimas	
Coagulasa	Cataliza la conversión de fibrinógeno en fibrina provocando el depósito de <i>S. aureus</i> , por lo que se vuelve menos inmunógeno.
Hialuronidasa	Cataliza la destrucción el ácido hialurónico en el tejido conjuntivo para ayudar a la diseminación del estafilococo.
Lipasas	Promueven la hidrólisis de lípidos lo que hace que <i>S. aureus</i> se disemine en el tejido cutáneo y subcutáneo.
DNAsas y proteasas	Colaboran en el proceso infeccioso y en la producción de lesiones.
Toxinas	
Hemolisinas	Rotura de membrana celular.
Leucocidina	Alteración de la permeabilidad celular de fagocitos.
Toxina exfoliativa	Epidermólisis, síndrome de piel escaldada por estafilococo.
Enterotoxinas	Intoxicación alimentaria.
Toxina del shock tóxico	Superantígeno que activa una gran cantidad de linfocitos con una producción masiva de citotoxinas. Síndrome del shock tóxico.

Enfermedades clínicas

En México, la situación de infecciones ocasionadas por *Staphylococcus aureus* es desconocida, ya que no existe un registro referente al número de casos asociados que atenten contra la vida del paciente, sobre todo a nivel de las infecciones graves provocadas por HA-MRSA (Hospital-Acquired Meticilin-Resistance *Staphylococcus*

aureus) y CA-MRSA (Community-Acquired Meticilin-Resistance *Staphylococcus aureus*) . Sin embargo un estudio realizado en el Hospital General Regional de León, Guanajuato (HGRL), durante el periodo de 2000 – 2007, se encontró infecciones por MRSA han ido en aumento. Esto podría deberse a que es un hospital general y maneja pacientes con diversas necesidades médicas. (Cendejas, Avalos, Soto, 2014).

Staphylococcus aureus es el causante de diversos procesos infecciosos que van desde infección cutáneas hasta enfermedades sistémicas mortales.

Produce infección de dos maneras

1. En forma directa, por invasión y posterior destrucción tisular local (proceso supurado), o luego de haberse diseminado por vía sanguínea.
 - Enfermedades por invasión.

* Absceso cutáneo	* Bacteriemia
* Impétigo	* Endocarditis.
* Foliculitis	* Neumonía y empiema.
* Ántrax (forunculosis)	* Osteomielitis.
* Celulitis de cara y cuello	* Artritis séptica.
* Hidradenitis supurada	* Meningitis.
* Mastitis	* Peritonitis
* Infección de heridas	* Pericarditis.
2. A través de los efectos de toxinas. Estas infecciones son causadas por la liberación al medio de sustancias tóxicas, que pueden ejercer su acción a cierta distancia del foco infeccioso.
 - Síndrome de la piel escaldada por estafilococo
 - intoxicación alimentaria
 - síndrome de choque tóxico estafilococo.

4.3.6 DIAGNOSTICO DEL LABORATORIO

Para la identificación de *S. aureus* es necesario utilizar algunas pruebas bioquímicas y medios de cultivo especiales que permitan su fácil determinación. Esta identificación se basa en las enzimas y las toxinas que produce el microorganismo. Aprovechando esas características se han diseñado medios para aislar esta bacteria, que son Baird-Parker, agar sal y manitol, agar salado manitol, agar estafilococos N° 110, agar DNAsa. (Cendejas, Avalos, Soto, 2014).

Cuadro 3.3 Perfil bioquímico y características diferenciales de *S. aureus*, *S. epidermis* y *S. saprophyticus*.

Prueba	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermis</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Pigmento	+	-	+/-
Manitol	+	-	+/-
Coagulasa	+	-	-
Catalasa	+	+	+
Hemolisis	α y β	A	-
Novobiocina	S	S	R
Fosfatasa	+	+	-
Desoxirribonucleasa	+	-	-
Proteína A	+	-	-

4.3.7 TRATAMIENTO

La mayoría de cepas de *S. aureus* producen betalactamasas que inactivan a la penicilina. En orden de actividad intrínseca frente a SASM se encuentran, en primer lugar los carbapenems, seguidos de las penicilinas isoxazólicas, las cefalosporinas de primera y segunda generación (con excepción de cefonicid), las de 3° generación (cefotaxima y ceftriaxona) y en último lugar cefoxitina, cefonicid, ceftazidima, cefixima y ceftibuteno. (Mensa J., et al. 2013).

5. DISEÑO METODOLÓGICO

Extracción del aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa*

5.1 Materiales

- ♠ Mortero
- ♠ Vidrio de reloj
- ♠ Cartuchos de papel filtro
- ♠ Tubo recolector
- ♠ hielos

- Equipos

- ♠ Equipo de soxhlet
- ♠ Estufa
- ♠ Balanza analítica
- ♠ Baño maría
- ♠ Termómetro
- ♠ Bomba de agua

- Solventes

- ♠ Éter etílico
- ♠ Agua destilada

- Materia prima

- ♠ Semilla de Jamaica

5.2 Método y técnica de preparación para la extracción del aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa*.

Método. Extracción Soxhlet.

En el método de Soxhlet, el componente de interés son las grasas, y su solubilidad es la propiedad en la que se basa. Sabemos que las grasas se disuelven en disolventes no polares, como el cloroformo, el hexano y el éter de petróleo.

Cuando un alimento está en contacto con este tipo de disolventes, las grasas muestran tal afinidad que al disolverse se separan del resto de los componentes, a este principio se le conoce como extracción sólido-líquido.

El equipo está integrado de abajo hacia arriba por:

1. Baño maría. Fuente de calor para evaporar el disolvente.
2. Matraz. Contiene el disolvente y el aceite extraído.
3. Cartucho. Contiene la muestra dentro de un dedal de celulosa y donde ocurre la extracción sólido-líquido.
4. Refrigerante. Provee un ambiente frío en el que se condensa el disolvente.

El método de Soxhlet se realiza en un equipo del mismo nombre para determinar la cantidad de grasa de los alimentos. El proceso inicia a partir de una muestra previamente seca, para evitar que el agua se combine con el disolvente y altere la prueba.

La cantidad de muestra necesaria se especifica en los métodos oficiales según el alimento de que se trate, ésta se coloca dentro de un cartucho en forma de dedal de celulosa, en el sifón.

Lo que sucede en el equipo es que el disolvente contenido en el matraz alcanza su punto de ebullición por efecto de la fuente de calor, sube en forma de vapor por el cuello de éste, recorre el sifón y llega al refrigerante. En éste, se condensa y regresa al sifón en forma líquida.

La condensación es gradual, podemos observarla en la formación de gotas que caen del refrigerante al sifón. Así, gota a gota, el disolvente se acumula justo donde está el cartucho de celulosa, éste es el momento en que entra en contacto con la muestra y aunque la separación de las grasas del alimento original no es visible a nuestros ojos, al empaparla, una parte de lípidos son disueltos en el disolvente y extraídos del alimento.

El sifón acumula el disolvente con los lípidos extraídos hasta que alcanza el nivel suficiente para regresar al matraz. El disolvente se recircula por el equipo repetidamente, extrayendo en cada recorrido una fracción de lípidos.

Conforme se repite este ciclo, podemos ver que el disolvente cambia de color, lo que manifiesta la extracción de las grasas y de compuestos de color con solubilidad afín o liposoluble. Dependiendo el alimento y su composición, será el tiempo requerido para la extracción. La cual en promedio es de ocho horas.

Con la extracción completa, se realiza un último paso de evaporación, para eliminar por completo el disolvente del aceite. (Campos-Mondragón, 2016).

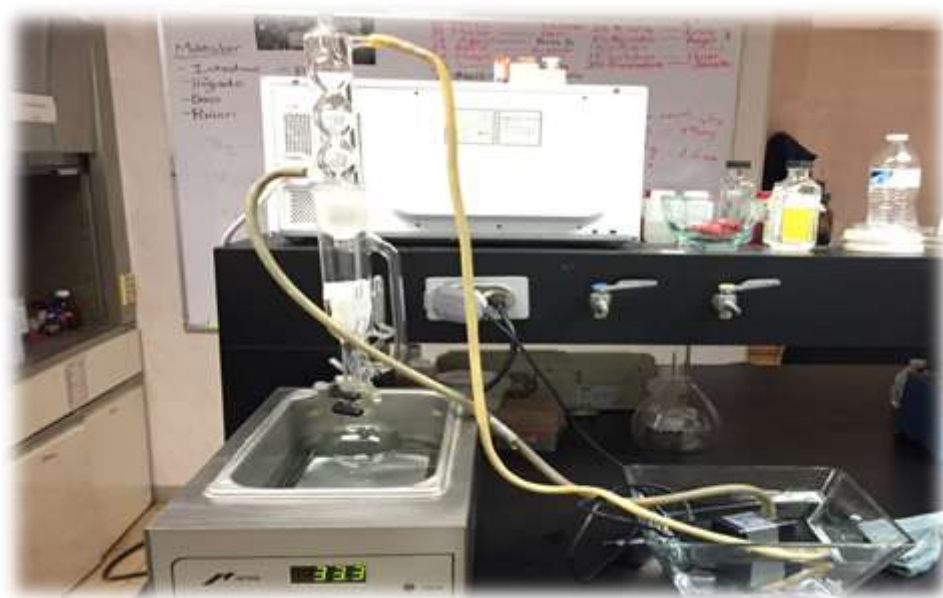
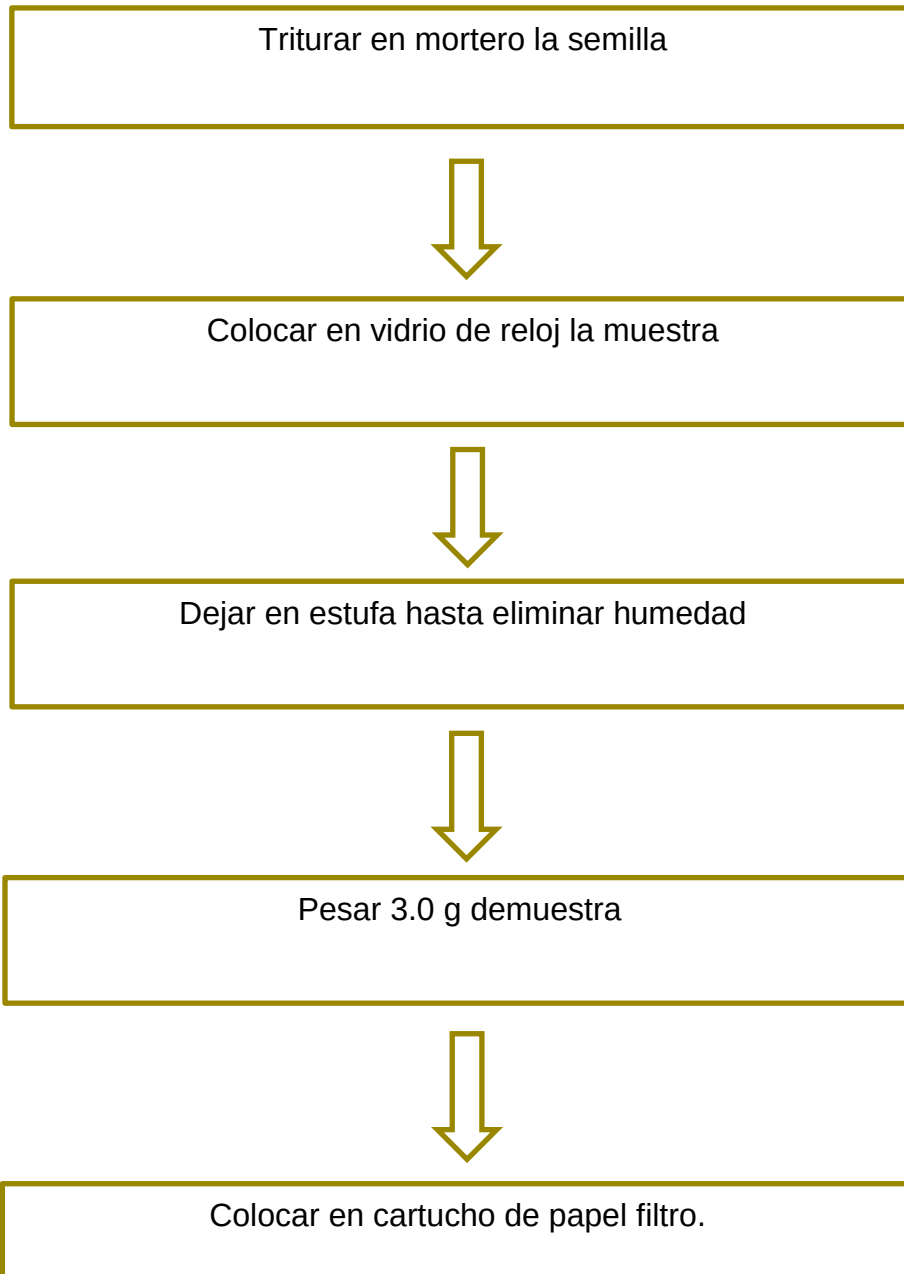
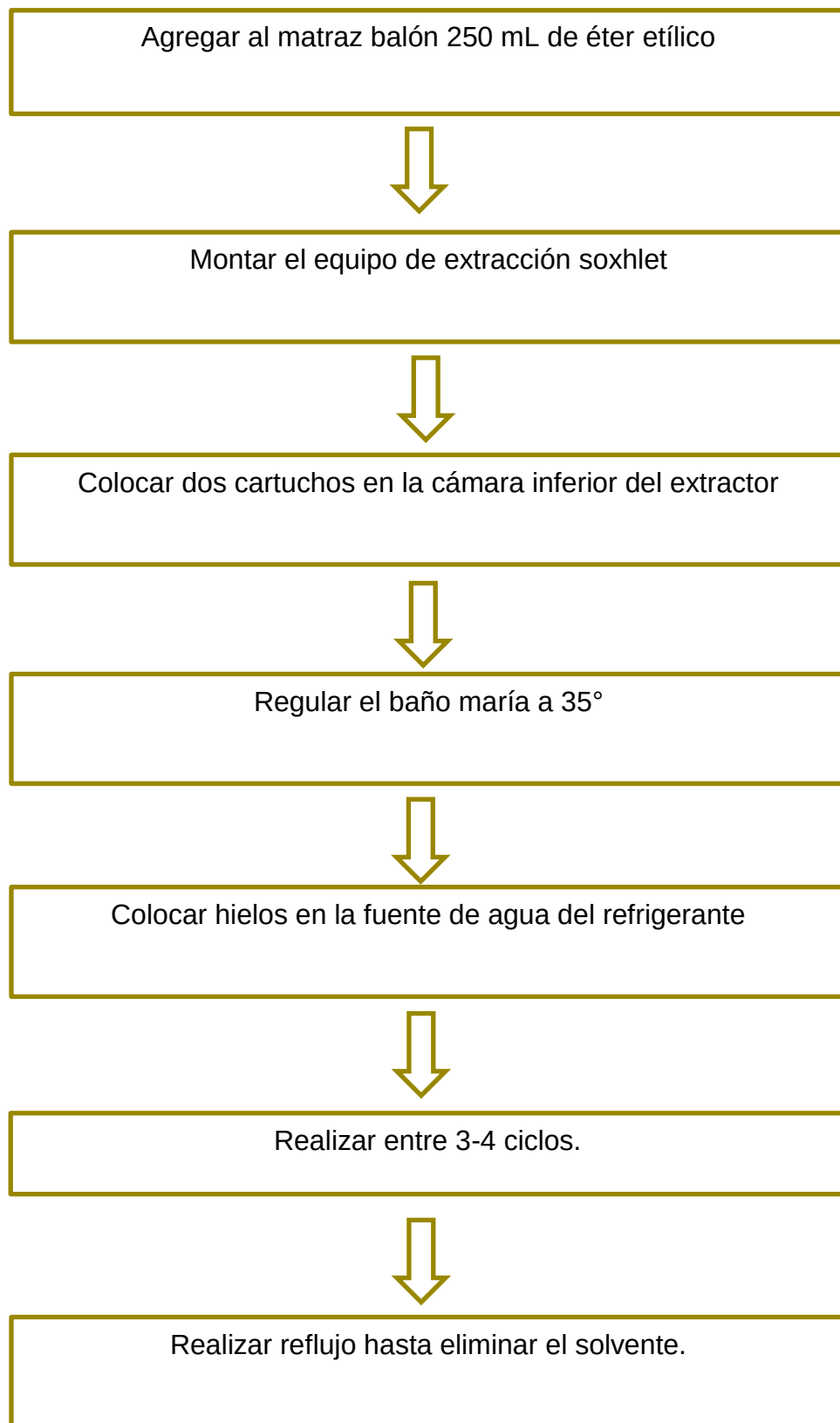


Fig.5 Equipo soxhlet. (Elaboración propia).

1. Preparación de la muestra



2. Extracción en equipo soxhlet



Experimentación del aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa* con bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*

5.3 Materiales

- ♠ Tubos de ensaye.
- ♠ Asas bacteriológica.
- ♠ Matraces.
- ♠ Probeta.

- Equipos
 - ♠ Espectrofotómetro.
 - ♠ Incubadora
 - ♠ Campana de flujo laminar.
 - ♠ Autoclave
 - ♠ Bascula.

- Medios de cultivo
 - ♠ Caldo soya tripticaseína.

- Solventes
 - ♥ Agua destilada.

- Microorganismos
 - ♥ *Staphylococcus aureus*.
 - ♥ *Escherichia coli*.

- Aceite
 - ♥ Aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa*.

5.4 Método y técnica de preparación

- Agar caldo soya tripticaseína

El caldo soya tripticaseína es un medio de cultivo líquido, muy nutritivo y no selectivo. Por su gran versatilidad es uno de los medios de cultivo líquido más utilizado a nivel general en el laboratorio de microbiología.

Fundamento

La tripteína, la peptona y la glucosa le proporcionan las propiedades nutritivas esenciales para convertirlo en un medio ideal para un desarrollo microbiano rápido.

El cloruro de sodio y el fosfato dipotásico actúan como equilibrio osmótico y regulador de pH respectivamente. (Gil. 2015).

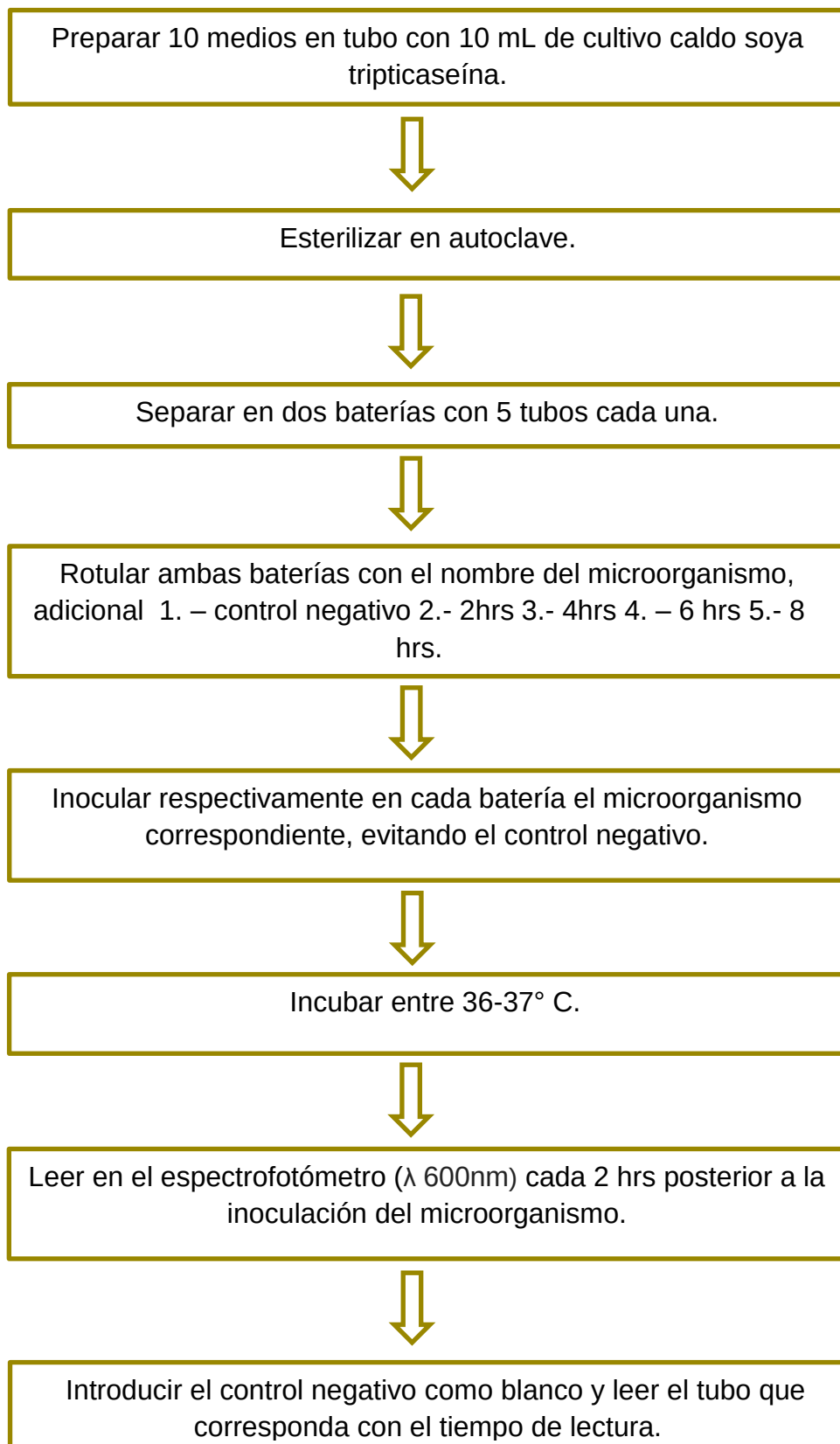
- Espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento que tiene la capacidad de proyectar un haz de luz monocromática (de un largo de onda particular) a través de una muestra y medir la cantidad de luz que es absorbida por dicha muestra.

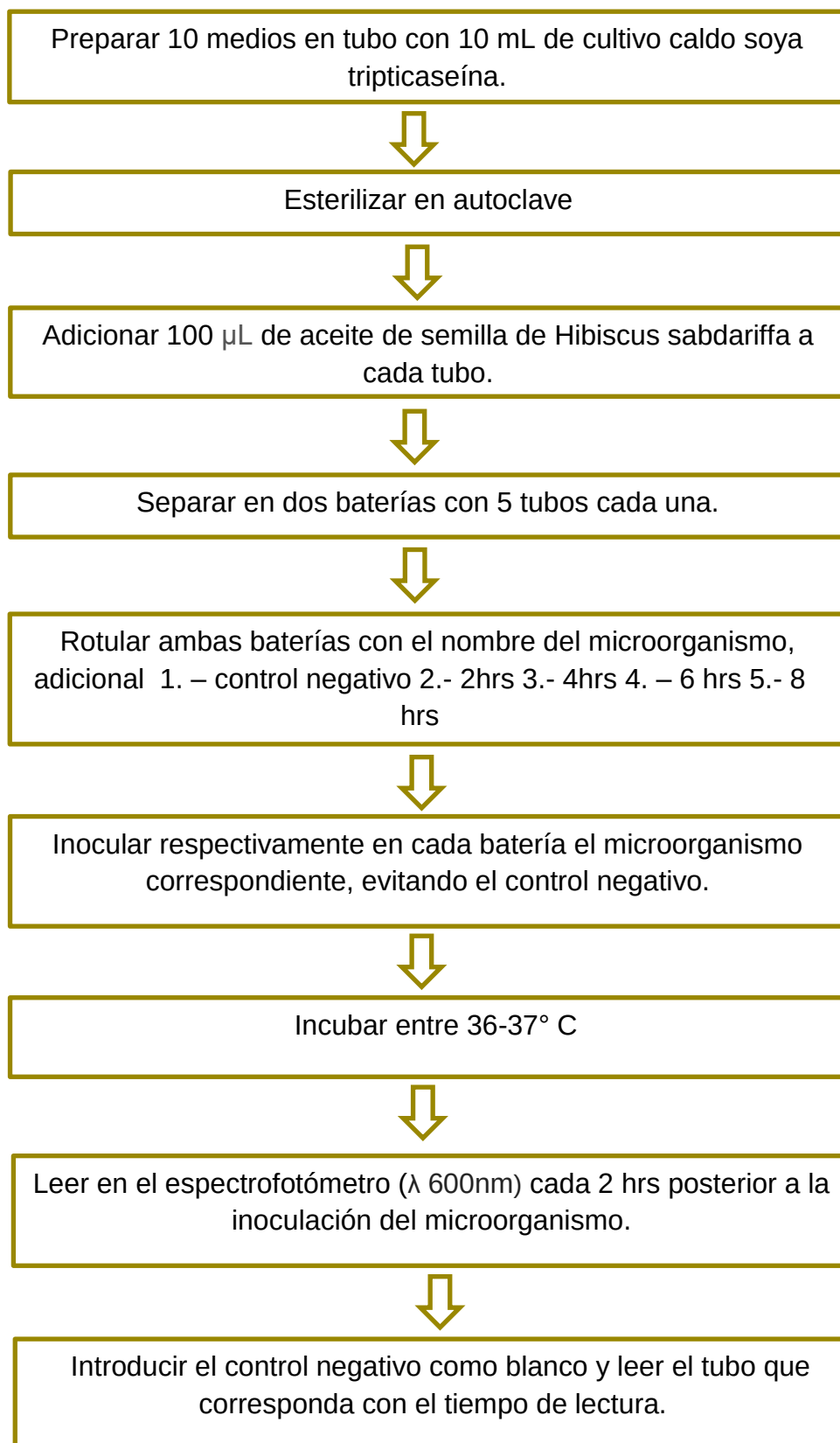
Entre sus funciones:

1. Nos da información sobre la naturaleza de la sustancia en la muestra. Esto podemos lograrlo midiendo la absorbancia (Abs) a distintos largos de onda (λ) y graficar estos valores en función del largo de onda, formando un espectrograma. Como cada sustancia tiene unas propiedades espectrales únicas, distintas sustancias produce distintos espectrogramas.
2. Nos dice cuanta cantidad de la sustancia que nos interesa está presente en la muestra. La concentración es proporcional a la absorbancia, según la Ley de Beer-Lambert: a mayor cantidad de moléculas presentes en la muestra, mayor será la cantidad de energía absorbida por sus electrones. (EcuRed contributors, 2015).

1. Preparación de la batería sin el aceite de *Hibiscus sabdariffa*.



2. Preparación de la batería con el aceite de *Hibiscus sabdariffa*.



6.0 Observaciones

6.1 Preparación de la muestra de semilla de *Hibiscus sabdariffa*.



Fig. 6.0 Limpieza (Elaboración propia).

Realiza una limpieza en las semillas es necesario antes de comenzar a procesarla, eliminar cualquier residuo de impurezas como restos de hojas, piedras pequeñas, insectos o cualquier otro agente extraño.



Fig. 6.1 Trituración. (Elaboración propia).

La semilla limpia se lleva a un mortero, para su trituración, hasta obtener un el tamaño de partícula más pequeño posible, pues mejora el proceso de extracción del aceite, si el contenido de humedad es mucho, se expone al calor para eliminarla, y facilitar más aun el proceso de triturado.



Fig. 6.2 Polvo. (Elaboración propia).

Ya triturada lo mas finamente posible, la semilla se coloca en un vidrio de reloj limpio, se observa un cambio de color, pues en un comienzo la semilla tenia un color café oscuro y ahora se puede apreciar un polvo de color beige.



Fig. 6.3 Estufa. (Elaboración propia).

Durante al menos una semana mantenemos el polvo de la semilla dentro de la estufa, a una temperatura aproximada de 45-50° C, es importante eliminar el mayor contenido de humedad posible, homogeneizando de vez en cuando, para que el proceso sea más uniforme.



Fig. 6.4 Cartuchos (Elaboración propia).

Se rellenan los cartuchos, previamente realizados con papel filtro, adicionamos aproximadamente 3.0 g de muestra, la semilla triturada y seca, reservamos los cartuchos en un lugar seco y alejado de la humedad.

6.2 Extracción del aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa*.



Fig. 6.5 Extracción en soxhlet.
(Elaboración propia).

La extracción se realiza por el método soxhlet, ya que es un método que ofrece un rendimiento óptimo, por el uso de un solvente puro, en este caso éter etílico, se colocan dos cartuchos por extracción, y adicionamos, 250 mL del solvente, regulamos el baño maría con una temperatura de 35°C. Adicional, es necesario colocar hielos en el agua del refrigerante continuamente, para mantener una temperatura constante y reducir la pérdida del solvente.



Fig. 6.6 Extracción y reflujo. (Elaboración propia).

Se realizan de entre 3-4 ciclos, observando que los el vapor del solvente no se salgan del refrigerante, y así evitar perdida del solvente o algún accidente. Pasados los ciclos, se eliminan los cartuchos con ayuda de unas pinzas, y se continúa con el reflujo, para separar el solvente, antes de que se realice el ciclo completo, se extrae el solvente y se recolecta en un frasco.



Ya que están separadas las fases completamente, observamos un aceite de color amarillo verdoso, recolectando una porción de 1.5 mL aproximadamente, y rotulamos y almacenamos.

Fig. 6.7 Recolección. (Elaboración propia).

6.3 Experimentación del aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa* con las bacterias *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*



Se prepara el medio de cultivo agar caldo de soya tripticaseína, según las indicaciones del proveedor, y se depositan 10 mL del medio en cada tubo de ensaye, se esterilizan alrededor de 20 tubos en el autoclave (121°C, 15 minutos).

Separamos los tubos en 4 baterías de 5 tubos cada una y rotulamos y reservamos.

Fig. 6.8 Medios de cultivo. (Elaboración propia).



Separamos los tubos en 4 baterías de 5 tubos cada una y rotulamos por cada batería: control negativo, 2 hrs, 4 hrs, 6 hrs y 8hrs. Y reservamos.

Fig. 6.9 Medios sin aceite. (Elaboración propia).



A dos de las baterías se les adiciona 100 μ L de aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa* a cada tubo, homogeneizamos en el vortex y reservamos.

Fig. 6.10 Medios con aceite (Elaboración propia).



Fig. 6.11 Inoculación
(Elaboración propia).

Se preparan dos baterías, una con aceite de semilla y la otra sin aceite, las cuales se inoculan con el microorganismo de *Staphylococcus aureus* dentro de la campana de flujo laminar, tratando de que todas las asadas sean del mismo tamaño.

En las dos baterías restantes, se inoculan en las mismas condiciones, el microorganismo de *Escherichia coli*.



Fig. 6.12 Incubación (Elaboración propia).

Ya inoculados ambos microorganismos, se pasan a la incubadora, a una temperatura de 37° C. y retiramos hasta que corresponda el tiempo de lectura, y solo el tubo correspondiente con el tiempo de lectura y el control negativo que funcionara como el blanco.



Las muestras se leen en el espectrofotómetro, a una λ 600nm, cada dos hrs, posterior a la inoculación del microorganismo.

Se registran las lecturas y se realizan los gráficos correspondientes.

Fig. 6.13 Espectrofotómetro
(Elaboración propia).

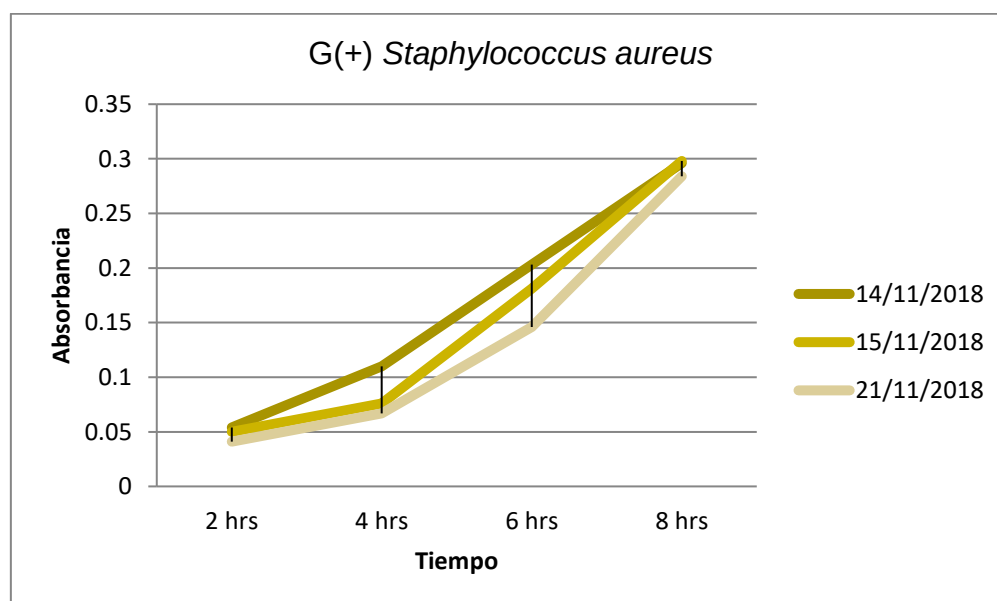
7.0 Resultados

7.1 Absorbancias de crecimiento de *Staphylococcus aureus* sin aceite.

Durante la experimentación se realizaron tres baterías en diferentes días, con una repetitividad de 3 lecturas, en el lapso correspondiente. Posteriormente se calcula la media de las lecturas obtenidas por lapso de tiempo.

Cuadro 4.0 Absorbancias de crecimiento de *S. aureus* sin aceite.

G+ <i>S. aureus</i>	14/11/2018		15/11/2018		21/11/2018	
	2 hrs	0.048 abs	2 hrs	0.063 abs	2 hrs	0.040 abs
		0.061 abs		0.040 abs		0.038 abs
		0.054 abs		0.049 abs		0.045 abs
		$\bar{X} = 0.054$ abs		$\bar{X} = 0.050$ abs		$\bar{X} = 0.041$ abs
	4 hrs	0.051 abs	4 hrs	0.123 abs	4 hrs	0.078 abs
		0.205 abs		0.064 abs		0.047 abs
		0.076 abs		0.041 abs		0.078 abs
		$\bar{X} = 0.110$ abs		$\bar{X} = 0.076$ abs		$\bar{X} = 0.067$ abs
	6 hrs	0.185 abs	6 hrs	0.177 abs	6 hrs	0.178 abs
		0.140 abs		0.186 abs		0.162 abs
		0.284 abs		0.181 abs		0.098 abs
		$\bar{X} = 0.203$ abs		$\bar{X} = 0.181$ abs		$\bar{X} = 0.146$ abs
	8 hrs	0.284 abs	8 hrs	0.294 abs	8 hrs	0.299 abs
		0.305 abs		0.286 abs		0.269 abs
		0.301 abs		0.316 abs		0.284 abs
		$\bar{X} = 0.296$ abs		$\bar{X} = 0.298$ abs		$\bar{X} = 0.284$ abs



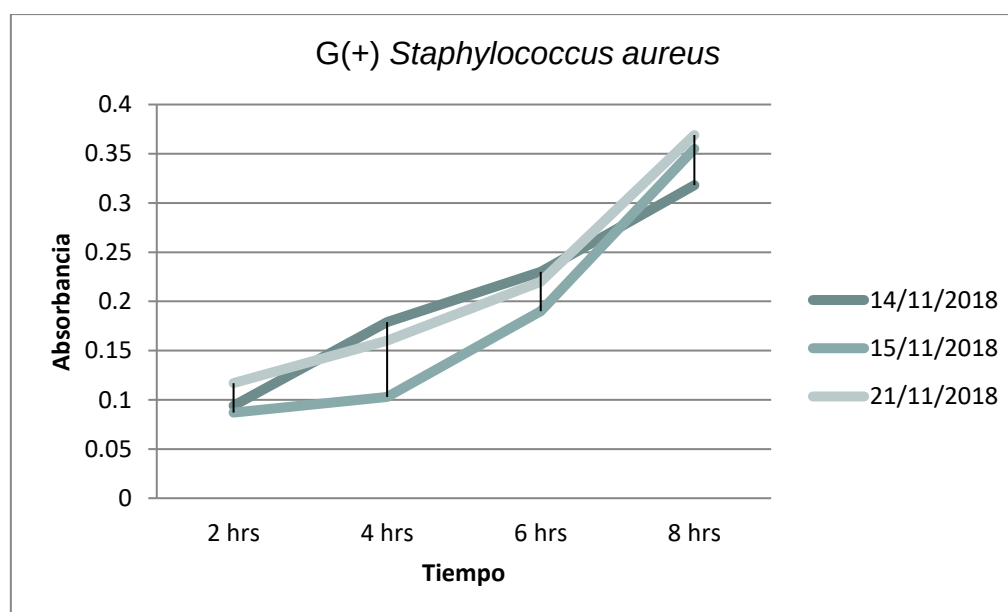
Grafica 1 Crecimiento de *Staphylococcus aureus* sin aceite.

7.2 Absorbancias de crecimiento de *Staphylococcus aureus* con aceite.

Durante la experimentación se realizaron tres baterías en diferentes días, con una repetitividad de 3 lecturas, en el lapso correspondiente. Posteriormente se calcula la media de las lecturas obtenidas por lapso de tiempo.

Cuadro 4.1 Crecimiento de *Staphylococcus aureus* con aceite.

G + <i>S. aureus</i>	14/11/2018		15/11/2018		21/11/2018	
	2 hrs	0.122 abs 0.091 abs 0.069 abs $\bar{X} = 0.094$ abs	2 hrs	0.063 abs 0.108 abs 0.090 abs $\bar{X} = 0.087$ abs	2 hrs	0.080 abs 0.139 abs 0.133 abs $\bar{X} = 0.117$ abs
	4 hrs	0.206 abs 0.152 abs 0.180 abs $\bar{X} = 0.179$ abs	4 hrs	0.103 abs 0.059 abs 0.148 abs $\bar{X} = 0.103$ abs	4 hrs	0.202 abs 0.152 abs 0.128 abs $\bar{X} = 0.160$ abs
	6 hrs	0.181 abs 0.238 abs 0.273 abs $\bar{X} = 0.230$ abs	6 hrs	0.194 abs 0.210 abs 0.168 abs $\bar{X} = 0.190$ abs	6 hrs	0.242 abs 0.191 abs 0.227 abs $\bar{X} = 0.220$ abs
	8 hrs	0.334 abs 0.297 abs 0.324 abs $\bar{X} = 0.318$ abs	8 hrs	0.367 abs 0.312 abs 0.386 abs $\bar{X} = 0.355$ abs	8 hrs	0.381 abs 0.365 abs 0.362 abs $\bar{X} = 0.369$ abs



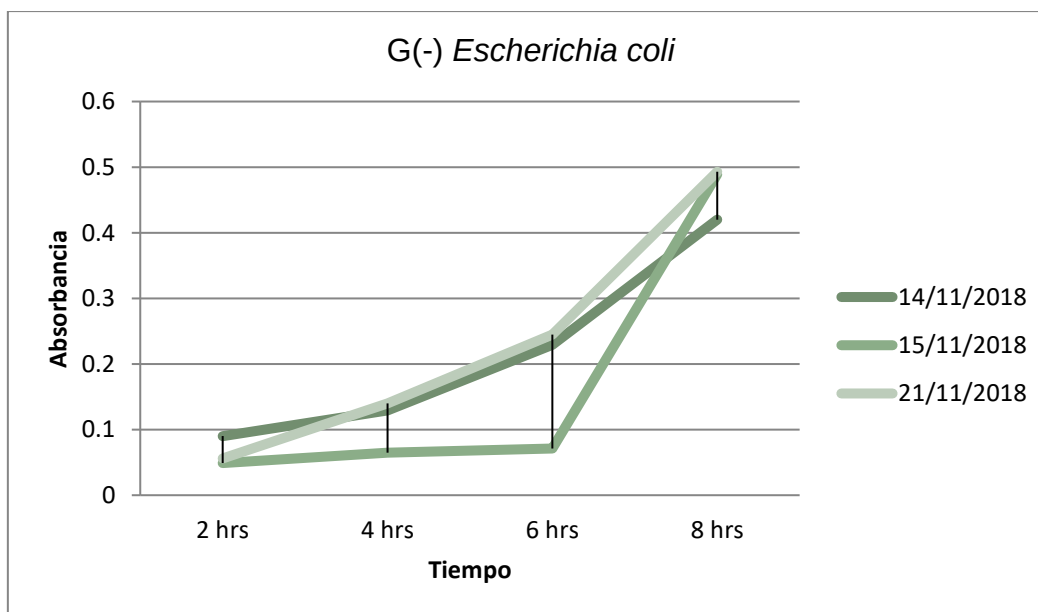
Grafica 2 Crecimiento de *Staphylococcus aureus* con aceite.

7.3 Absorbancias de crecimiento de *Escherichia coli* sin aceite.

Durante la experimentación se realizaron tres baterías en diferentes días, con una repetitividad de 3 lecturas, en el lapso correspondiente. Posteriormente se calcula la media de las lecturas obtenidas por lapso de tiempo.

Cuadro 4.2 Absorbancias de crecimiento de *Escherichia coli* sin aceite.

G - <i>E. coli</i>	14/11/2018		15/11/2018		21/11/2018	
	2 hrs	0.075 abs 0.094 abs 0.101 abs $\bar{X} = 0.090$ abs	2 hrs	0.008 abs 0.065 abs 0.071 abs $\bar{X} = 0.049$ abs	2 hrs	0.046 abs 0.075 abs 0.047 abs $\bar{X} = 0.056$ abs
	4 hrs	0.123 abs 0.116 abs 0.148 abs $\bar{X} = 0.129$ abs	4 hrs	0.165 abs 0.085 abs 0.101 abs $\bar{X} = 0.117$ abs	4 hrs	0.161 abs 0.134 abs 0.121 abs $\bar{X} = 0.140$ abs
	6 hrs	0.223 abs 0.216 abs 0.248 abs $\bar{X} = 0.229$ abs	6 hrs	0.265 abs 0.285 abs 0.261 abs $\bar{X} = 0.270$ abs	6 hrs	0.261 abs 0.234 abs 0.241 abs $\bar{X} = 0.245$ abs
	8 hrs	0.417 abs 0.436 abs 0.410 abs $\bar{X} = 0.420$ abs	8 hrs	0.483 abs 0.487 abs 0.499 abs $\bar{X} = 0.489$ abs	8 hrs	0.480 abs 0.502 abs 0.497 abs $\bar{X} = 0.493$ abs



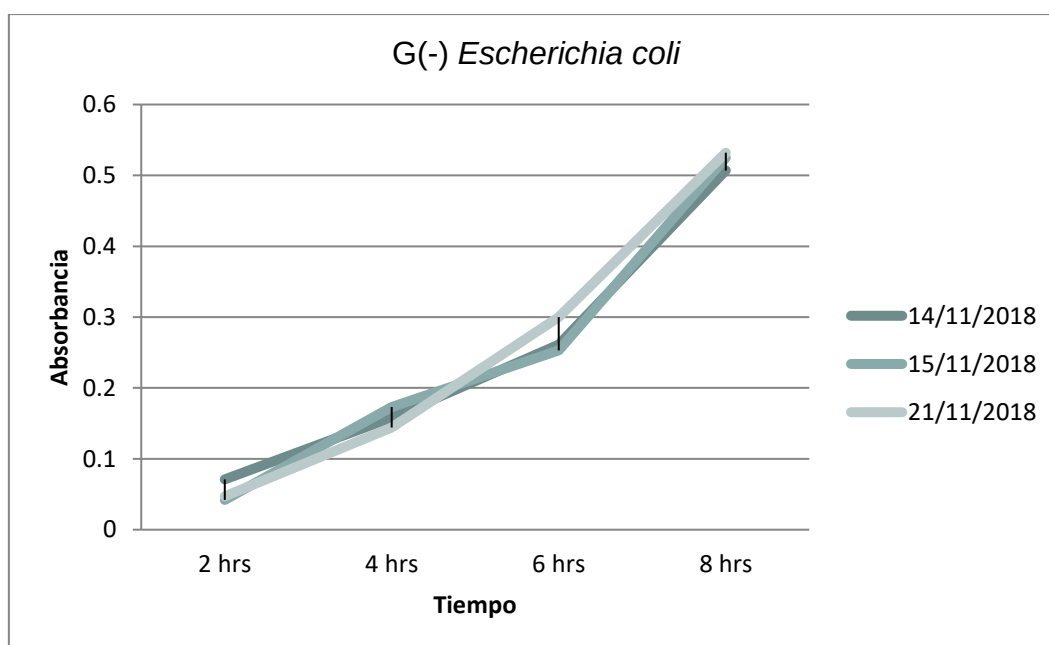
Grafica 3 Crecimiento de *Escherichia coli* sin aceite.

7.4 Absorbancias de crecimiento de *Escherichia coli* con aceite.

Durante la experimentación se realizaron tres baterías en diferentes días, con una repetitividad de 3 lecturas, en el lapso correspondiente. Posteriormente se calcula la media de las lecturas obtenidas por lapso de tiempo.

Cuadro 4.3 Absorbancias de crecimiento de *Escherichia coli* con aceite.

G - <i>E. coli</i>	14/11/2018		15/11/2018		21/11/2018	
	2 hrs	0.061 abs 0.074 abs 0.079 abs $\bar{X} = 0.071$ abs	2 hrs	0.047 abs 0.023 abs 0.057 abs $\bar{X} = 0.042$ abs	2 hrs	0.045 abs 0.065 abs 0.032 abs $\bar{X} = 0.047$ abs
	4 hrs	0.149 abs 0.160 abs 0.166 abs $\bar{X} = 0.158$ abs	4 hrs	0.147 abs 0.123 abs 0.157 abs $\bar{X} = 0.173$ abs	4 hrs	0.115 abs 0.161 abs 0.158 abs $\bar{X} = 0.144$ abs
	6 hrs	0.229 abs 0.260 abs 0.296 abs $\bar{X} = 0.261$ abs	6 hrs	0.242 abs 0.268 abs 0.249 abs $\bar{X} = 0.253$ abs	6 hrs	0.312 abs 0.271 abs 0.314 abs $\bar{X} = 0.300$ abs
	8 hrs	0.542 abs 0.514 abs 0.505 abs $\bar{X} = 0.507$ abs	8 hrs	0.564 abs 0.510 abs 0.503 abs $\bar{X} = 0.525$ abs	8 hrs	0.515 abs 0.580 abs 0.591 abs $\bar{X} = 0.562$ abs

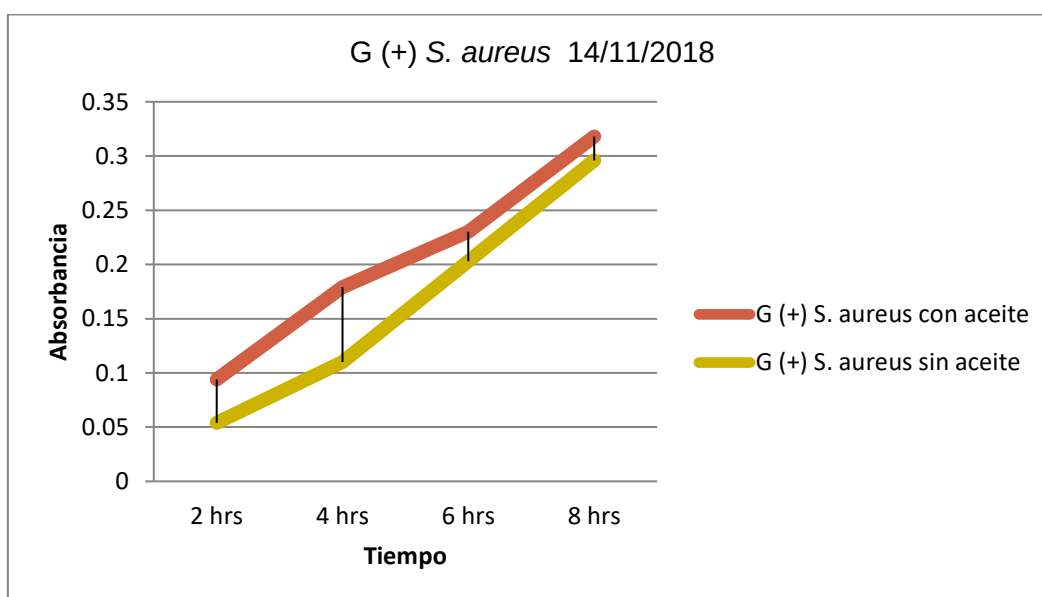


Grafica 4 Crecimiento de *Escherichia coli* con aceite.

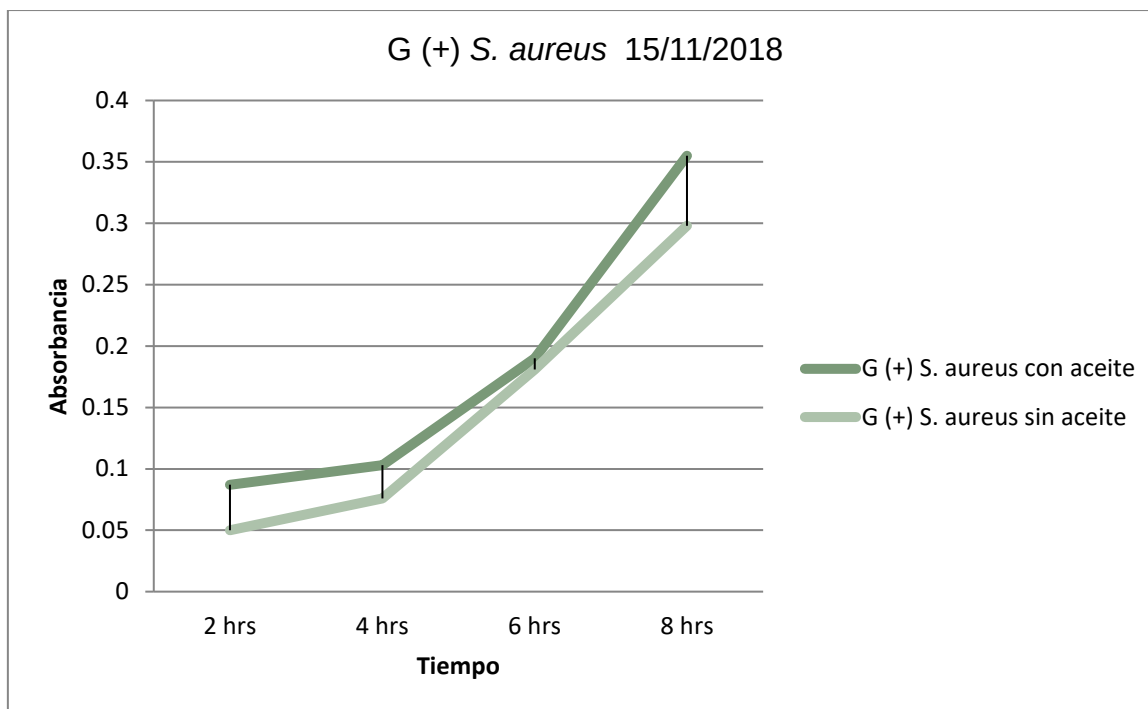
7.5 Comparación de las medias de las absorbancias de crecimiento de *Staphylococcus aureus* con aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa* vs sin aceite.

Cuadro 4.4 Comparación de las medias de crecimiento de *S. aureus* con aceite vs sin aceite.

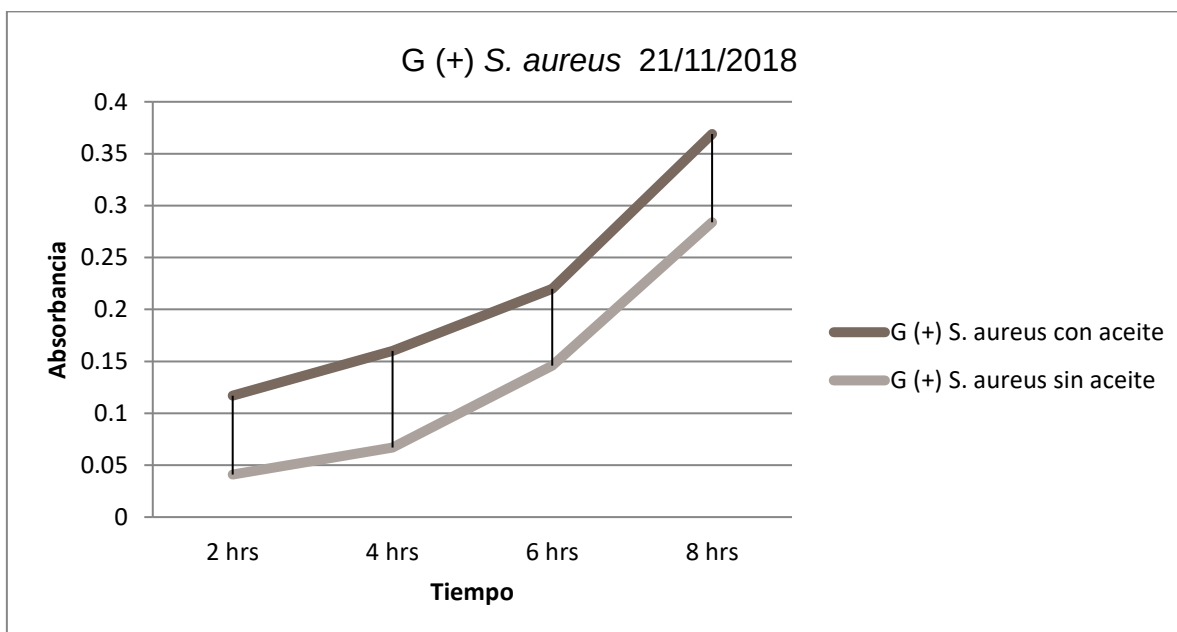
fecha	Hrs	G (+) con aceite	G (+) sin aceite
14/11/2018	2 hrs	0.094 abs	0.054 abs
	4 hrs	0.179 abs	0.110 abs
	6hrs	0.230abs	0.203 abs
	8 hrs	0.318 abs	0.296 abs
15/11/2018	2 hrs	0.087 abs	0.050 abs
	4 hrs	0.103 abs	0.076 abs
	6 hrs	0.190 abs	0.181 abs
	8 hrs	0.355 abs	0.298 abs
21/11/2018	2 hrs	0.117 abs	0.041 abs
	4 hrs	0.160 abs	0.067 abs
	6 hrs	0.220 abs	0.146 abs
	8 hrs	0.369 abs	0.284 abs



Grafica 5 Comparación 1 de crecimiento de *S. aureus* con aceite vs sin aceite.



Gráfica 6 Comparación 2 de crecimiento de *S. aureus* con aceite vs sin aceite.

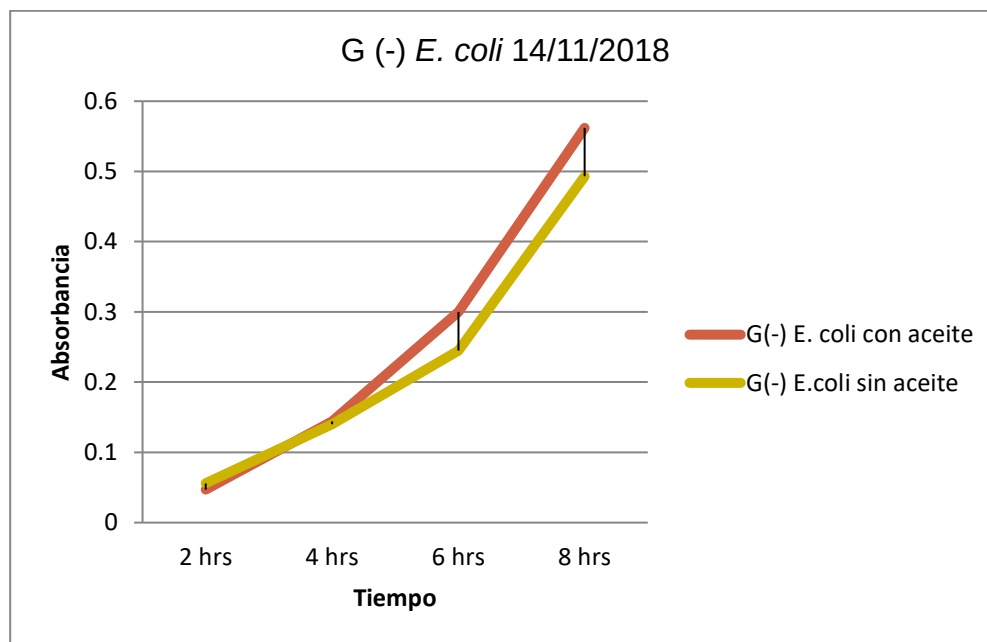


Grafica 7 Comparación 3 de crecimiento de *S. aureus* con aceite vs sin aceite.

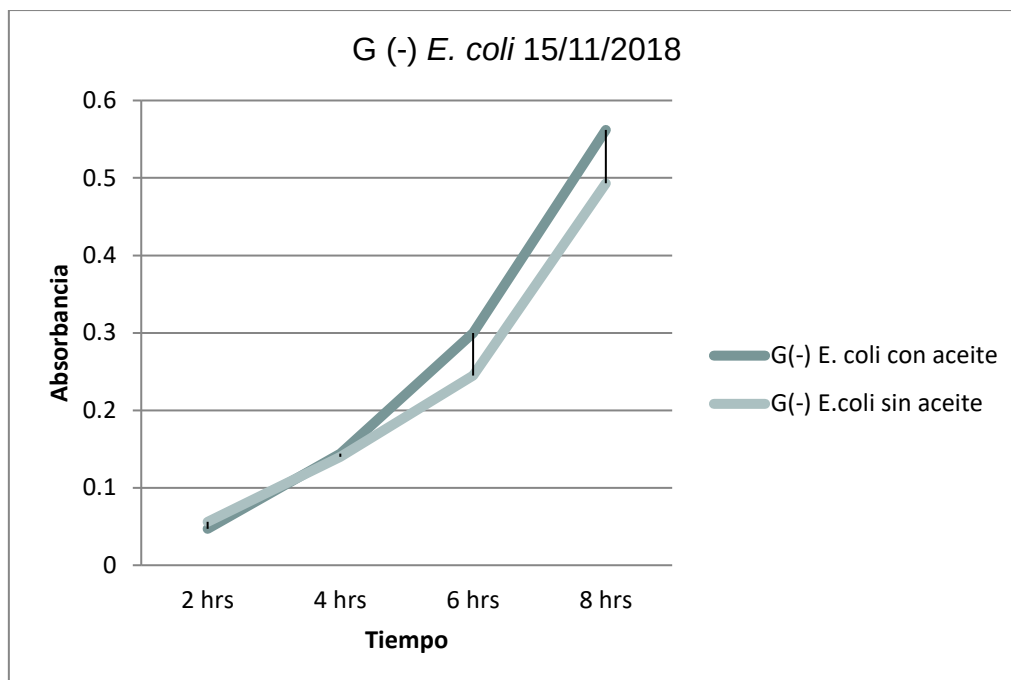
7.6 Comparación de las medias de las absorbancias de crecimiento de *Escherichia coli* con aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa* vs sin aceite.

Cuadro 4.5 Comparación de las medias de crecimiento de *E. coli* con aceite vs sin aceite.

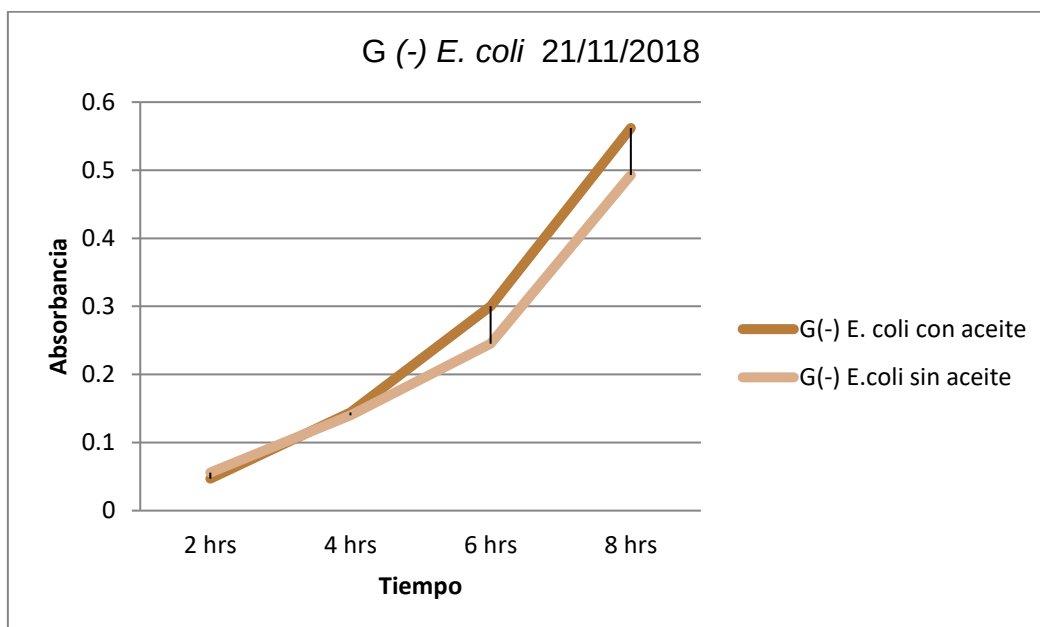
fecha	Hrs	G (-) con aceite	G (-) sin aceite
14/11/2018	2 hrs	0.071 abs	0.090 abs
	4 hrs	0.158abs	0.129 abs
	6hrs	0.261abs	0.229 abs
	8 hrs	0.507 abs	0.420 abs
15/11/2018	2 hrs	0.042 abs	0.049 abs
	4 hrs	0.173 abs	0.117 abs
	6hrs	0.253 abs	0.270 abs
	8 hrs	0.525 abs	0.489 abs
21/11/2018	2 hrs	0.047 abs	0.056 abs
	4 hrs	0.144 abs	0.140 abs
	6hrs	0.300 abs	0.245 abs
	8 hrs	0.562 abs	0.493 abs



Gráfica 8 Comparación 1 de crecimiento de *E. coli* con aceite vs sin aceite.

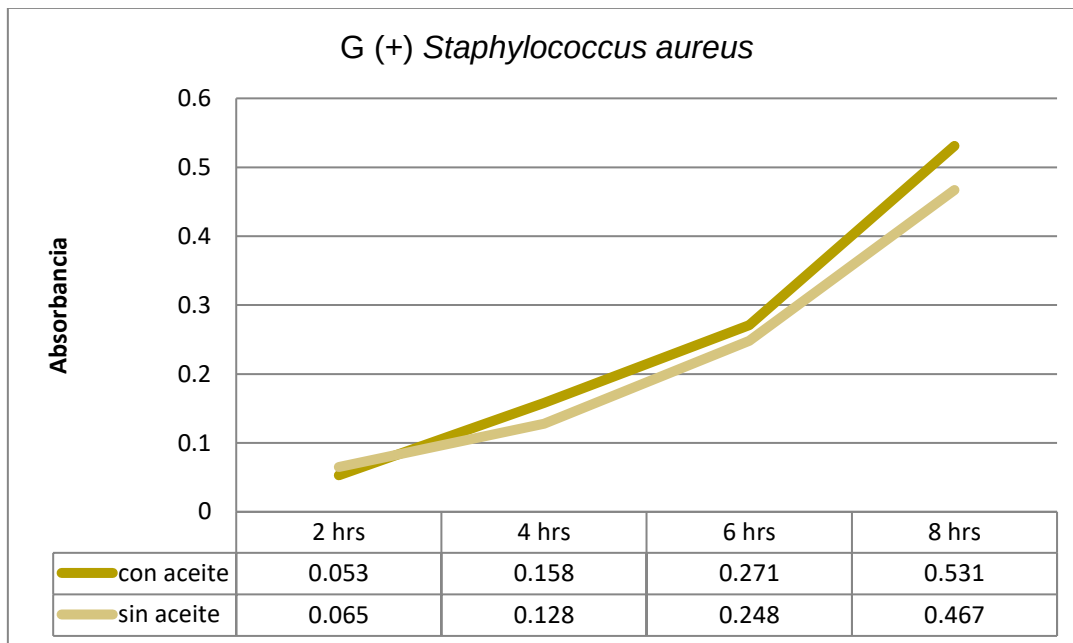


Gráfica 9 Comparación 2 de crecimiento de *E. coli* con aceite vs sin aceite.



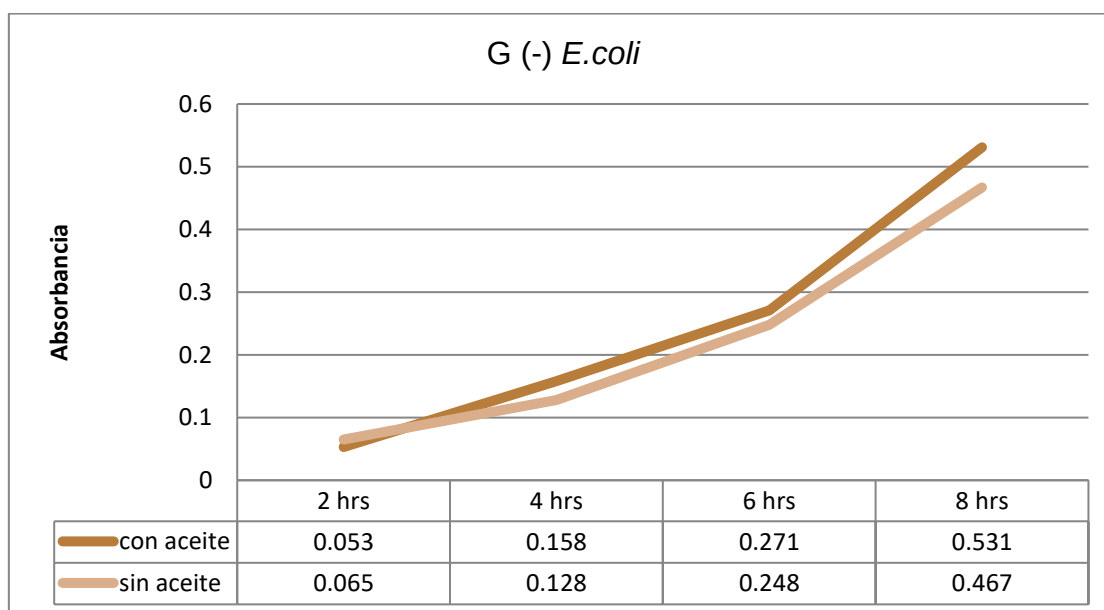
Gráfica 10 Comparación 3 de crecimiento de *E. coli* con aceite vs sin aceite.

- Microorganismo *Staphylococcus aureus*



Gráfica 11 Comparación 4 del crecimiento de *S. aureus* con aceite vs sin aceite.

- Crecimiento de *Escherichia coli*



Gráfica 12 Comparación 5 del crecimiento de *E. coli* con aceite vs sin aceite.

- Análisis descriptivo.

En la siguiente investigación se evalúa el crecimiento de dos distintos microorganismos *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, para lo cual realizó un método sencillo para la reproducción de bacterias, donde se les brindaran las condiciones óptimas para crecer a los microorganismos, una temperatura (36°- 37°C) y un medio rico en nutrientes e ideal para el desarrollo microbiano rápido (caldo soya tripticaseína).

Alternamente, se evalúa el crecimiento de dichos microorganismos, con las mismas condiciones anteriores, adicional, se enriquece el medio de cultivo, con un aceite proveniente de la semilla de *Hibiscus sabdariffa*; previamente extraído por el método de soxhlet por el investigador.

Para el primer experimento, en las condiciones normales que se le otorgan a un microorganismo para su crecimiento optimo, se observa un crecimiento normal sin alteraciones.

Para el segundo experimento, donde se enriquece con el aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa*, se puede observar un mayor crecimiento; normal y sin alteraciones, a comparación del primer experimento.

8. Discusión

La necesidad actual de la inclusión de alimentos funcionales en la dieta va cada vez más en aumento. *Hibiscus sabdariffa* ha sido considerada una buena fuente de nutrientes, esto debido a su composición nutrimental es rica en diversos componentes como proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales.

Por lo cual era de importancia la evaluación experimental de *Hibiscus sabdariffa*, comenzando con microorganismos de metabolismos menos complejos como las bacterias, donde se pudiese observar de manera más sencilla y rápida la presencia o no de esta característica nutricional de *Hibiscus sabdariffa*.

Se observaron diferencias significativas tanto en el crecimiento de *Staphylococcus aureus* como en el *Escherichia coli*; es notable un aumento en el crecimiento de los microorganismos a los que se les adiciono el aceite de la semilla de *Hibiscus sabdariffa* en el medio normal, a diferencia de los que se les proporciono solo el medio, considerando que este era rico en nutrientes.

Lo cual es indicador que el aceite de semilla de *Hibiscus sabdariffa* le da al medio un extra de nutrientes debido a sus propiedades.

Anteriormente investigadores le han comprobado algunas de sus propiedades terapéuticas y nutrionales de *Hibiscus sabdariffa*, mediante la utilización de extractos o directamente con el cáliz, en sus experimentos, la idea de trabajar con otra parte de la planta de *Hibiscus sabdariffa*, en este caso la semilla, nos ayuda determinar si está, también nos brinda esas propiedades terapéuticas o nutricionales. Esto para el completo aprovechamiento de la planta.

Cambiar el uso limitado de *Hibiscus sabdariffa* a el cáliz, y poner en descubierto las propiedades de todos su complementos, en este caso la semilla.

9.0 CONCLUSIONES

Se pudo determinar que aun teniendo un medio de cultivo que ya le aporta los nutrientes necesarios, adicionar el aceite extraído de la semilla de *Hibiscus sabdariffa* (Jamaica) funcionan como una fuente de nutrientes extra para el microorganismo, que fuesen aprovechados por *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Por lo tanto la semilla de *Hibiscus sabdariffa* contiene ácidos grasos que aportan nutrientes, lo cual se pondría interpretar como que la calidad nutrimental del aceite de la semilla es buena, ya que hizo una diferencia bastante significativa en el crecimiento de los microorganismos.

El hecho de que solo se probó con dos microorganismos y un solo medio de cultivo, nos limita un poco, ya que solo podría funcionar bien para dichos microorganismos o en este medio de cultivo en específico por lo tanto sería interesante probar con otros medios de cultivo y otros microorganismos, y así determinar si el aceite sigue conservando la calidad nutrimental, mejora, disminuye, o simplemente no aporta ningún beneficio.

GLOSARIO

Absorbancia.- Es la medida que refleja cómo se atenúa la radiación cuando atraviesa un elemento. La absorbancia puede expresarse mediante un logaritmo que surge a partir del vínculo entre la intensidad que sale y la intensidad que ingresa la sustancia.

Aerobias.- Que necesita oxígeno para vivir o desarrollarse.

Agar.- _Es un polisacárido compuesto por galactosa, un azúcar simple. Cuando se disuelve en agua a alta temperatura y luego se enfría, adquiere su consistencia de gelatina.

Alimento funcional.- Son aquellos que además de sus efectos nutricionales habituales, tienen compuestos biológicos (nutriente o no nutrientes), con efecto selectivo positivo añadido sobre una o varias funciones del organismo y que presentan efectos beneficiosos para la salud, mejorándola.

Anaerobias facultativas.- Pueden desarrollar un metabolismo respiratorio, usando el oxígeno presente; o fermentativo, en ausencia de oxígeno.

Anaerobias.- Que es capaz de vivir o desarrollarse en un medio sin oxígeno.

Antioxidantes.- Son sustancias naturales o fabricadas por el hombre que pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células. Se encuentran en muchos alimentos, incluyendo frutas y verduras.

Antocianinas.- Son pigmentos hidrosolubles que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos.

Catalasa.- Enzima antioxidante presente en la mayoría de los organismos aerobios. Cataliza la disminución del peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en agua y oxígeno.

Flagelos peritricos.- Son apéndices largos y delgados en las bacterias, que se encuentran rodeando el perímetro de la celular.

Hermafrodita.- Cuando es una misma flor se encuentran ambos órganos sexuales se dice que es una flor hermafrodita, es decir, son aquellas plantas que poseen los órganos masculinos (estambres) y femeninos (pistilo) en la misma flor.

Liofilizado.- Es un proceso de conservación de los alimentos en el que se congela y se descongela el alimento pasando por el vacío y a presión atmosférica baja. El resultado es un alimento similar al deshidratado, sin agua, que se puede conservar durante mucho tiempo.

Media aritmética.- Es el promedio de un conjunto de números, obtenida sumando todos los números y dividiéndola entre n, donde n es igual al número de valores presentes en el conjunto.

Oxidasa.- Enzima que activa el oxígeno y lo fija al hidrogeno o a otros cuerpos.

Pliegues intertriginosos.- Es un área en dos áreas de la piel que se pueden tocar o frotar juntos.

Toxinas termoestables (ST).- Molécula proteica de un peso molecular de 102.000, no dializable, sensible a pronasa, inactivada a pH 3.0 y gracias a su alto peso molecular tiene buenas propiedades antigénicas e inmunogénicas.

Toxinas termolábiles (LT).- Molécula de bajo peso molecular (10.000) la cual mantiene su actividad luego de ser sometida a 100°C por 10 minutos.

Verotoxinas o toxinas tipo shiga.- Es una exotoxina producida por las cepas de *Escherichia coli*.

Virulencia.- _Grado de la capacidad de un microorganismo para producir una enfermedad.

Zoonótico.- Son enfermedades que pueden transmitirse los animales vertebrados y el hombre. Los agentes que desencadenan esas afecciones pueden ser microorganismos diversos como bacterias, hongos, virus, helmintos y rickettsias.

REFERENCIAS

Arriaga, L. 2007. "Caracterización, extracción y estabilidad de los colorantes naturales presentes en el cáliz de *Hibiscus sabdariffa* L. (rosa de Jamaica) como alternativa de consumo del colorante artificial rojo no. 40". Universidad de San Carlos de Guatemala.

Biruete-Guzmán, A., Juárez-Hernández, E., Sieiro-Ortega, E., Romero-Viruegas, R y Silencio-Barrita, J. L. (2009). Los nutraceuticos. Lo que es conveniente saber. Revista Mexicana de Pediatría. 76(3):136-145.

Blanquer, A., Herrera, A., Zamilpa, A., Olivar T. y Martínez, M. (2009). Interés de la flor de hibisco en problemas cardiovasculares. Revista de Fitoterapia. 9(1):25-35.

Bustos-Martínez, J., Hamdan-Partida, A. y Gutiérrez-Cárdenas, M. (2006). *Staphylococcus aureus*: la reemergencia de un patógeno en la comunidad. Revista Biomed. 17:287-305.

Campos-Mondragón, G. (2016). SOXLETH, del inventor al método, [versión electrónica]. Saber Más. No 29: 21-23

Carvajal-Zarrabal, O., Waliszewski, S. M., Barradas- Dermitz, D. M, Orta-Flores, Z., Hayward-Jones; P. M., Nolasco-Hipólito, C., Angulo-Guerrero, O., Sánchez-Ricaño, R., Infanzón, R. M. y Trujillo, P. R. L. (2006). The consumption of *Hibiscus sabdariffa* dried calyx ethanolic extract reduced lipid profile in rats. Plant Foods for Human Nutrition. 60 (4): 153-159.

Castañeda R.; Cáceres A. (2014). Compuestos bioactivos y propiedades terapéuticas de los cálices de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* Linn).Revista Científica vol. 24 no.1.

Cervantes-García, E., García-González, R. y Salazar-Schettino P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio. 61(1):28-40.

Chia-Wen, L., Hui-Pei, H., Kuei-Chuan, C., Cheg-Hsun, W. y Chau-Jong W. (2010). *Hibiscus sabdariffa* extract induced apoptosis of proliferating smooth muscle cell. Journal of Food Biochemistry. 34(3):549-563.

Cisse, M., Dornier, M., Ndiaye, A., Reyne, M., Sock, O. 2019. Le bissap (*Hibiscus sabdariffa* L.): composition et principales. En Fruits. Vol. 64 (3). Pág. 179-193.

Domínguez-Domínguez, S., Domínguez-López, A., González-Huerta, A. y Navarro-Galindo, S. (2007). Cinética de inhibición e isothermas de absorción de humedad de la semilla de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Revista Mexicana de Ingeniería Química. 6(3): 309-316.

EcuRed contributors. (2015). Espectrofotómetro. EcuRed. Recuperado de <https://www.ecured.cu/index.php?title=Especial:Citar&page=Espectrofot%C3%B3metro&id=2569279>

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). Mecanismo de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógena. Revista Chilena Infectol; 33(4): 438-450.

Galicia-Flores, L. A., Salinas-Moreno, Y., Espinoza-García, B. M., & Sánchez-Feria, C. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 121-129.

Gil Marielsa. (2015). Caldo soya tripticaseína: fundamento, preparación y usos. Lifeder.com. fecha de consulta 8 de Junio del 2019. Disponible en: <https://www.lifeder.com/caldo-soya-tripticaseina/>

Herrera-Arellano, A., Flores-Romero, S., Chávez-Soto, M. A. y Tortoriello, J. (2004). Effectiveness and tolerability of a standardized extract from *Hibiscus sabdariffa* in patients with mild to moderate hypertension: a controlled and randomized clinical trial. *Phytomedicine*. 11(5):375-382.

Herrera-Arellano, A., Miranda-Sánchez, J. y Avila-castro, P. (2007). Clinical effects produced by a standardized herbal medicinal product of *Hibiscus sabdariffa* on patients with hypertension. A randomized, double-blind, lisinopril-controlled clinical trial. *Planta Médica*. 73(1):6-12.

Howe RA, Brown NM, Spencer RC. The new threats of Gram positive pathogens: re-emergence of things past. *J Clin Pathol* (1996); 49:444-9.

INSTITUTO NACIONAL DE GEOGRAFIA E INFORMATICA (INEGI). (2005). Anuario estadístico del estado de Guerrero. México.

Kumar, Manish; Rajneesh y Gard, Rakesh. 20120. Phytochemical properties and Antioxidant activity of *Hibiscus sabdariffa* Linn. En: *International Journal of pharmaceutical and chemical sciences*. Vol.1 (3). Págs. 887-8891.

Márquez-Viscaino, R. L., de la Rosa-Torres, C., Agosto-Rivero, C. y Medina-Montes, M. (2007). Actividad diurética del extracto acuoso total de los cálices de *Hibiscus sabdariffa* L. administrado en ratas albinas variedad Wistar. *Scientia et Technica*. 13(33):377-381.

Martínez, E. 1992. Diagnóstico de la situación actual del cultivo de la rosa de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), en los municipios de Granados, El Chol y Salama del departamento de Baja Verapaz. Tesis de Licenciatura. Universidad de Guatemala, Guatemala.

Mensa, J., Soriano, A., Llinares, P., Barberan, J., Montejo, M., Salavert, M., Álvarez-Rocha, L., Maseda, E., Moreno, A., Pasquau, J., Gómez, J., Parra, J., Candel, J., Azanza, J., García, J., Marco, F., Soy, D., Grau, S., Arias, J., Fortun, J., Arístides de Alarcón, C. y Picazo, J. (2013). Guía de tratamiento antimicrobiano de la infección por *Staphylococcus aureus*. *Rev Esp Quimioter*. 26 (Suppl. 1):1-84.

Meza-Chavarría, P. (2012). Guía de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) e (*Hibiscus cruentus* Bertol). Asociación para el Desarrollo Eco-Sostenible (ADEES). Chinandega, Nicaragua. 25p.

Mohd-Esa, N; Shin, F., Ismail, A y Lye, C. 2010 Antioxidant activity parts of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extracts and potential of the sedes. En Food Chemistry. Vol. 112 (10). Págs. 1055-1060.

Molina-López, J., Eslava-Campos, C. (2015). *Escherichia coli* diarrogénica. Departamento de Salud Pública, Facultad de Medicina, UNAM. Facmed.unam. Recuperado de <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>

Ramírez-García, J. y Nicholls-Posada, J. 2014. Usos y aplicaciones medicinales e industriales de la flor de Jamaica. Colombia. Recuperado de <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/2727>.

Revista Yucatán. 2016. Café de semillas de Jamaica. Revista Yucatán. Recuperado de <http://www.revistayucatan.com/v1/merida/cafe-de-semillas-de-jamaica/#comments>

Rodríguez I. 2019. Cultivo de Flor de Jamaica. Agropedia. Recuperado de <https://agrotendencia.tv/agropedia/cultivo-de-flor-de-jamaica/>

Rodríguez-Angeles G. (2002). Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de *Escherichia coli*. Salud Pública Mex. 44:464-475.

S. Cid-Ortega y J. A. Guerrero-Beltrán. (2012). Propiedades funcionales de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos 6-2: 47-63.

SAGARPA. (2009). Anuario estadístico. 2009. consultado en www.sagarpa.gob.mx

SAGARPA-ASERCA. (1999). México, proveedor de plantas medicinales al mundo. Claridades agropecuarias, 73, 13-21.

Sayago-Ayerdi, S y Goñi, I. 2010 Hibiscus sabdariffa L: Fuente de fibra antioxidante. En archivos latinoamericanos de nutrición. Vol. 60 (1). Págs. 79-84.

Soriano, J., Tejada de Hernández, I., 1995. Estudio preliminar del valor nutritivo de la semilla de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) para el pollo de engorda. Tec. Pecu. Mex. Vol. 33 no 1.

Sumaya Martínez, Ma.Teresa; Medina Carrillo, Raquel E.; Machuca Sánchez, Ma. Luisa; Jiménez Ruiz, Edgar; Balois Morales, Rosendo; Sánchez Herrera, Leticia Mónica. (2014). Potencial de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante. Revista Mexicana de Agronegocios, vol. 35, julio-diciembre, pp1082-1088. Sociedad Mexicana de Administración Agropecuaria A.C. Torreón, México.

Tzu-Li, L., Huis-Hsuan, L., Chang-Che, C., Ming-Cheng, L., Ming-Chih, C. y Chau-Joung, W. (2007). *Hibiscus sabdariffa* extract reduces serum cholesterol in men and women. Nutrition Research. 3(2):319-324.

Usoh, I., Akpan, E., Etim, E. y Farombi, E. (2005). Antioxidant action of dried *Hibiscus sabdariffa* L. on sodium arsenite- induced oxidative stress in rats. Pakistan Journal of Nutrition. 4(3):135-141.

Zendejas-Manzo, G. S., Avalos-Flores, H. y Soto-Padilla, M. Y. (2014). Microbiología general de *Staphylococcus aureus*: Generalidades, patogenicidad y métodos de identificación. Rev Biomed. 25:129-143.

Referencias de figuras

Anónimo. (2008). Bacteria *S. aureus* escapando de la destrucción por las células blancas humanas. [Ilustración]. Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Staphylococcus_aureus#/media/File:Staphylococcus_aureus_bacteria_escape.jpg

Anónimo. (2014). Hojas, *Hibiscus sabdariffa*. [Ilustración] Recuperado de https://es.wikipedia.org/wiki/Hibiscus_sabdariffa#/media/File:Hibiscus_sabdariffa_Gah_jiap_%E0%B8%81%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B9%80%E0%B8%88%E0%B8%B5%E0%B9%8A%E0%B8%A2%E0%B8%9A_ou_roselle.JPG

Anónimo. (2016). Jamaica Puerta de anzar. [Ilustración]. Recuperado de <http://jamaicapuertadeanzar.blogspot.com/2016/06/desarrollo.html>

Archarya, T. (2013). Colonias de *Escherichia coli* en agar eosina azul de metileno (EMB) (Nota: Brillo metálico). [Ilustración] Recuperado de <https://microbeonline.com/eosin-methylene-blue-emb-agar-composition-uses-colony-characteristics/>

Cárdenas, J. (2017). Hibisco. [Ilustración]. Recuperado de <http://www.doctissimo.fr/html/sante/phytotherapie/plante-medicinale/hibiscus.htm>

Castañeda R.; Cáceres A. (2014). Contenido químico principal de cálices de *H. sabdariffa*: 1) Delfinidina-3-sambubiósido; 2) Cianidina-3-sambubiósido; 3) Acido protocatéquico; 4) Hibiscetina; 5) Gossipitrina. [Figura].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* enteropatógena. [Ilustración].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* enterotoxigénica. [Ilustración].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* enteroinvasiva. [Ilustración].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* shigatoxigénica. [Ilustración].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* enteroagregativa. [Ilustración].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* adherente difusa. [Ilustración].

Farfán-García, A. E., Ariza-Rojas, S. C., Vargas-Cárdenas, F. A. y Vargas-Remolina L. V. (2016). *E. coli* adherente agregativa. [Ilustración].

Gracia-Alarcón, J. (2008). Hibiscus rojo. [Ilustración] recuperado de <https://www.flickr.com/photos/javiergarciaalarcon/4721957130>

Kon, K. (2018). #66214181 *Escherichia coli* bacteria en la sangre, la ilustración 3D. Sepsis, bacteriemia. La ilustración muestra en forma de bastoncitos bacteria *E. coli* con flagelos peritricos. [Ilustración]. Recuperado de https://es.123rf.com/photo_66214181_escherichia-coli-bacteria-en-la-sangre-la-ilustraci%C3%B3n-3d-sepsis-bacteriemia-la-ilustraci%C3%B3n-muestra-en-form.html

Kon, K. (2018). #662213146 Bacteria *Escherichia coli* aisladas sobre fondo blanco, ilustración 3D, Gram-negativos bacteria con flagelos que es parte de la flora intestinal normal y también causa infecciones entéricas. [Ilustración]. Recuperado de https://es.123rf.com/photo_66213146_bacteria-escherichia-coli-aisladas-sobre-fondo-blanco-ilustraci%C3%B3n-3d-gram-negativos-bacteria-con-flagel.html

Kon, K. (2018). #69859620 Bacterias *Staphylococcus aureus* sobre la superficie de la membrana mucosa, ilustración 3D. [Ilustración]. Recuperado de https://es.123rf.com/photo_69859620_bact%C3%A9rias-staphylococcus-aureus-sobre-a-superf%C3%ADcie-da-pele-ou-membrana-mucosa-ilustra%C3%A7%C3%A3o-3d.html

Makprasert, S. (2016). Crecimiento bacteriano de la cultura en los medios del agar de MacConkey (s. f.). *Escherichia coli* contiene pequeños granos ligeros Foco en toda la superficie del agar. [Ilustración]. Recuperado de <https://es.dreamstime.com/foto-de-archivo-crecimiento-bacteriano-de-la-cultura-en-los-medios-del-agar-de-macconkey-escherichai-co-image74601096>

McGraw-Hill. (2014). Microbiología Médica. [Ilustración].

Microbeonline. (2013), Colonias amarillas de *S. aureus* en agar de sal de manitol (MSA). [Ilustración]. Recuperado de <https://microbeonline.com/mannitol-salt-agar-msa-composition-uses-and-colony-characteristics/>

Microbiología Clínica. (2019). Beta hemolisis a contra luz *Staphylococcus aureus*. [Ilustración]. Recuperada de <https://www.facebook.com/laboratoriomicrobiologico/photos/a.1581449348793988/2304680329804216/?type=3&theater>

Rebanas. (2017). Hojas de Rósela. [Ilustración]. Recuperado de <https://rebanas.com/gambar/images/17-khasiat-bunga-rosella-kesehatan-kecantikan-merah-gambar-daun-rosela>

Shutterstock. (2015). *Staphylococcus aureus* on chocolate II agar. [Ilustración]. Recuperado de <https://www.shutterstock.com/image-photo/staphylococcus-aureus-on-chocolate-ii-agar-539482279>

ANEXOS





**Secretaría
de Educación**
Gobierno del Estado de Michoacán



Tuzantla
Municipio



La Secretaría de Educación del Gobierno del Estado de Michoacán,
a través de la Dirección General de Desarrollo e Investigación Educativa
y el Ayuntamiento del Municipio de Tuzantla

otorgan el presente

RECONOCIMIENTO

a

Magaly Montserrat Becerra Barajas

por haber participado como conferencista con el tema **Uso y propiedades antioxidantes de la jamaica** en el evento **Ciencia en Acción**, realizado en el Domo Parroquial y en la Escuela Primaria "Vicente Guerrero", los días 4 y 5 de abril del año en curso.

Tuzantla, Michoacán, 5 de abril de 2019.



L.E.F. Gonzalo Villa Ibarra
Director General de Desarrollo
e Investigación Educativa



Lic. Yazmín Danae Arroyo Martínez
Presidenta Municipal de Tuzantla