UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÒNOMA DE NICARAGUA UNAN-LEÒN FACULTAD DE CIENCIAS QUÌMICAS ESCUELA DE FARMACIA DEPARTAMENTO DE ANÀLISIS DE DROGAS Y MEDICAMENTOS



Tema: Determinación de límite microbiano al jarabe de carao (*Cassia grandis L.*) con mayor demanda por la población, comercializado en centros naturistas de la ciudad de León.

Enero 2007.

MONOGRAFÍA PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO QUÍMICO-FARMACÉUTICO.

Autores:

Br. Lidia del Carmen Bolaños López.

Br. Junieth Esperanza Bolaños López.

Br. Byron Efraín López Peralta.

Tutor: Lic. Lisseth Aráuz.

León, febrero del 2007.



AGRADECIMIENTO.

Este trabajo investigativo no hubiese sido posible sin la ayuda de:

- Nuestra tutora Lic. Lisseth Aráuz quien nos brindó su ayuda y nos transmitió sus valiosos conocimientos, los cuales nos sirvieron de pilar para realizar nuestra tesis.
- ❖ Msc. Fernando E. Baca por su orientación y colaboración que permitieron llevar a cabo nuestro estudio.
- Lic. Gloria Herrera por su apoyo incondicional durante la elaboración del presente trabajo.
- David Espinoza y Gladis Rojas por su importante cooperación durante la realización de nuestro ensayo.
- ❖ Todos los docentes que nos compartieron su sabiduría durante estos años en la Facultad de Ciencias Químicas que nos permitieron crecer profesionalmente.



DEDICATORIA.

- ❖ A Dios, mi creador, por haberme permitido concluir mis estudios universitarios e iniciar otra etapa en mi vida.
- ❖ A mi madre por sus valiosos consejos, su ayuda incondicional y por sus esfuerzos que me permitieron salir adelante y obtener mi título universitario.
- ❖ A mi abuelita por su comprensión y apoyo incondicional.
- ❖ A mi hermano por su cariño y sus recomendaciones para mi crecimiento personal.
- ❖ A mis tías y primas por el amor y confianza que me han brindado.

Lidia del Carmen Bolaños López.



DEDICATORIA.

- Primeramente a Dios, el ser que considero como la base de mi vida, que me ha dado el privilegio de vivir y ha guiado y brindado fortaleza a cada uno de mis pasos llevándome a culminar una de las metas más importantes.
- ❖ A mi madre por permitirme la vida y brindarme abnegada y desinteresadamente todo su apoyo, e ir de la mano conmigo en todos los momentos de mi vida.
- ❖ A mi hermano por ser la persona que le ha dado una luz a mi infancia y hasta hoy sigue conmigo en el camino.

Junieth Esperanza Bolaños López.



DEDICATORIA

- ❖ A Dios: por su misericordia, gracia y bondad me permitió la vida, me dio las bendiciones y fuerzas para poder realizar este trabajo.
- ❖ A mis padres: por su dedicación y amor, brindándome su atención y cariño motivándome a continuar en los momentos difíciles, logrando mi formación.
- ❖ A: Ingeniero Rolando Salvador Mora, Lic. Dania Hernández por su apoyo incondicional, consejos, dedicación que me brindaron para lograr alcanzar esta meta importante en mi vida.
- ❖ A mis amigos: por ser las personas que compartieron conmigo no solo los momentos alegres, sino también los momentos de dificultades.

Byron Efraín López Peralta.



ÍNDICE

Contenido	Número de págin	а
Introducción		1.
Objetivos		2.
Marco Teórico		3.
Material y Método		18.
Resultados		21.
Discusión		22.
Conclusión	All All Sign	23.
Recomendaciones		24.
Bibliografía		25.
Anexos		26.
	TUYER	



I NTRODUCCIÓN.

Desde tiempos inmemorables las plantas han servido como un recurso al hombre, utilizadas con un fin valioso para éste, por su uso potencial en la medicina, que son de gran importancia para el tratamiento de enfermedades padecidas por el ser humano.1

La riqueza de conocimientos acumulada durante milenios por la medicina folklórica se ha convertido en la moderna disciplina de la etnofarmacología (estudio de la medicina nativa) que recientemente ha alcanzado un status independiente. 1 Así lo ha demostrado el carao que debido a sus propiedades curativas es muy utilizado para tratar la anemia, hemorragia, infecciones dermatomucosas, entre otras enfermedades; sin embargo a pesar de ser muy utilizado por la población únicamente se encontró dos estudios realizados en Nicaragua, los cuales son:

- Mayorga Rodríguez, estudio bromatológico del carao (Cassia grandis L.) ,León, Nicaragua, UNAN 1971.₂
- Estudio sobre la cura de la anemia en animales a través de la administración de carao realizado en la Escuela Internacional de Agricultura y Ganadería, Rivas, Nicaragua.

Se decidió realizar el presente trabajo investigativo debido a que muchas personas ingieren productos naturales que se comercializan libremente en las calles o centros naturistas, como es el caso del jarabe de carao, el cual ha tenido bastante auge en el mercado nacional, teniendo como principal demandante la población infantil, sin embargo no se realiza un control microbiológico estricto que garantice a los consumidores que este producto está exento de patógenos que podrían causarle muchos daños y algunos de ellos irreversibles, además se contribuirá a la existencia de mayor información sobre esta importante planta medicinal.



Objetivo General.

• Determinar el límite microbiano al jarabe de carao (*Cassia grandis L.*) con mayor demanda, comercializado en centros naturistas de la ciudad de León. Enero 2007.

Objetivos Específicos.

- Identificar la presencia de bacterias aerobias mesófilas en jarabe de Cassia grandis L.
- Determinar la presencia de hongos y levaduras en jarabe de *Cassia grandis L.*
- Identificar la presencia de bacterias patógenas: Escherichia coli, Staphylococcus aureus, Pseudomona aeruginosa y Salmonella spp. en jarabe de carao.



MARCO TEÓRICO

DESCRIPCIÓN DEL CARAO.

Familia: Caesalpinaceae.

Nombre científico: Cassia grandis L.

Sinónimos: Carol, Caraol.

APRENDAMOS A CONOCER EL CARAO.

El árbol de carao afortunadamente es muy bien conocido ya que posee muchas características anatómicas, distintivas y por los múltiples beneficios que ofrece a la sociedad. Los árboles pueden llegar a ser bastante grandes y corpulentos, y no son raros los que miden de 20 y hasta más metros de altura, característico por su popa amplia y en forma de cúpula o media esfera, lo cual es posible gracias a una gran cantidad de ramas, muy largas y en forma de arcos, todo un prodigio arquitectónico de la naturaleza. El tronco es perfectamente cilíndrico y uniforme, de corteza gruesa y lisa, de color gris claro, cubierto por las cicatrices horizontales que dejan las ramas que se han desprendido con anterioridad, éstas cicatrices van desapareciendo conforme el tronco se hace más grueso, es muy notable el color anaranjado fuerte que posee la corteza de su parte interna.₃

LAS HOJAS.

Las hojas del carao son compuestas y alternas, perfectamente paripinnadas, con la apariencia como de una pluma, con 20 a 40 foliolos, siempre en un par y miden unos 50cm de largo. Poseen un eje central peloso, acanalado, con 3 a 20 pares de hojuelas de 3 a 6 cm de largo, redondeados u obtusos en el ápice y en la base, con el borde liso y el ápice está provisto de una cerda fina. Ambas caras están densamente cubiertas de pelillos finos. 5 La cara superior es lisa mientras la inferior es pubescente de color orín. 2



Los árboles producen una abundante cantidad de hojas que forman un follaje denso y espeso, ideal para dar sombra en lugares muy asolados. Sin embargo el carao es una especie caducifolia, motivo por el cual se desprende de todas su hojas durante los meses más secos del año.₃

Las hojas nuevas empiezan a aparecer cuando el árbol está en plena floración, conformando una increíble combinación de forma, textura y colores. Las hojas contienen antraquinonas (aloe-emodina, ácido crisofánico, fisción, reina), barakol, flavonoides, leucoantocianinas y saponinas.₃

LAS FLORES DEL CARAO.

Individualmente son pequeñas, de colores que van desde blanco, rosado y lila en un mismo árbol, cada flor está compuesta por 5 pétalos encorvados como conchas que forman una corola de forma más o menos esférica. Las flores nacen agrupadas en densos racimos de hasta 20 y más centímetros de largo, con 15 o más flores cada uno y a veces recubren toda la copa del árbol, los cuales aparecen una vez que el árbol ha botado todas sus hojas.₃

LOS FRUTOS DEL CARAO.

Conocidos como sandales probablemente son las características más notables de este magnífico árbol. Al igual que todos los árboles de la gran familia de las Fabaceas o Leguminosas, los frutos del carao son legumbres que en este caso alcanzan los 50 o más centímetros de largo y hasta 4cm o más de grosor. 3

Los sandales son muy grandes, casi cilíndricas y pesadas₄, de cáscara gruesa y dura de color verde, tornándose claro cuando están tiernos y negros al madurar, pueden permanecer hasta un año en la copa, y es muy común que los frutos nuevos se mezclen en la copa con los del año anterior, los frutos no se abren sino que al madurar caen pesadamente al pie del árbol madre. Una vez en el suelo los sandales son rápidamente atacados por una especie de insectos coleóptero que devoran todo el interior.₃

En el fruto se han encontrado ácido cinámico, hierro, vitaminas y azúcares internamente, el fruto está dividido en una gran cantidad de celdas circulares separadas por una pared leñosa. En el interior de cada celda encontramos una semilla inmersa en un líquido espeso y de color café, de un olor muy penetrante y sabor muy particular que recuerda un poco al chocolate. Esta sustancia se conoce como santal o miel de carao y diluida



en agua o leche es utilizada para elaborar exquisitas bebidas frías o calientes.3

LA SEMILLA.

Las semillas miden un poco más de 1cm de largo, tienen forma de almendra, su cubierta o cáscara es muy dura, lisa y de color café rojizo, las semillas contienen flavonoides y polisacáridos.₃

Propagación de la semilla:

Como las semillas del Carao no se dispersan porque los frutos al caer no se abren y por lo tanto están destinadas a quedar en su interior, es muy probable que los frutos deben ser comidos por ciertos animales herbívoros silvestres, los cuales muelen el duro fruto con sus dientes, se tragan las semillas las cuales transportan en sus estómagos largas distancias y luego dejan caer al suelo con sus excrementos. Los ácidos estomacales de estos animales herbívoros no digieren completamente estas duras semillas sino que más bien suavizan su dura cobertura y estimulan su capacidad de germinación.₃

Ya en el suelo la semilla luego de haber pasado por este tratamiento digestivo, germinan vigorosamente utilizando como primer sustrato los excrementos húmedos del herbívoro antes de fijarse a la tierra, sin embargo a falta de herbívoros silvestres esta misma función la realizan eficientemente las vacas, caballos y ovejas.₃

Pretratamiento de la semilla:

Las semillas necesitan ser pretratadas antes de ser sembradas, un método confiable es la escarificación manual con papel de lija hasta que las semillas pierdan el brillo o con unas tijeras podadoras cortando la punta opuesta al embrión, a continuación se sumergen en agua por 24 horas.₃

El pretratamiento acelera la germinación de la semilla comenzando a los 3-6 días comparados con 45 días sin pretratamiento. Una vez que comienza la germinación se completa en 35-50 días. La semilla puede sembrarse en camas de germinación con arenas lavadas o en bolsas de arena con tierra.₃

MADERA.

El duramen es café amarillento con rayas y vetas más oscuras, la albura es casi blanca y muy demarcada del duramen.

La madera del carao es semidura, de color café claro sin mayores características distintivas, no posee importancia comercial debido principalmente a que:



- 1-Al secarse se raja y se tuerce muy fácilmente.
- 2-Es muy severamente atacada por los insectos barrenadores de la madera.
- 3-Es muy susceptibles a la podredumbre causada por los hongos de la humedad.

En muy pocos días los trozos y piezas aserradas de esta madera se deterioran por completo debido a la combinación de los 3 factores mencionados. 3

ECOLOGÍA.

Prefiere lugares húmedos, aunque también prospera en sitios con estación seca absoluta de 5 a 6 meses. En áreas secas prefiere los márgenes de ríos, es parte de bosques semicaducifolios de tierras bajas y ecosistemas de riberas, también muy común en lugares de clima fresco.₃

NATURAL.

Desde el sur de México a través de toda América Central y las Antillas hasta Brasil.₃

PLANTADA.

Se ha plantado en Guatemala, Honduras y Costa Rica en las zonas de bosques húmedos con 6 meses secos, a una elevación de 40m sobre el nivel del mar.₃

RECOLECCIÓN.

El mejor momento para la recolección en América Central es de Marzo a Abril. Las vainas se recolectan de los árboles cuando tienen un color marrón oscuro o negro. A continuación se secan al sol por 1-2 días (3-4 horas por días) y se golpean para liberar la semilla, la cual se separa manualmente de las vainas rotas. Se remojan en agua por 2-3 días para disolver la cubierta mucilaginosa, se lavan y se secan. Cada vaina contiene unas 55 semillas en promedios, y cada Kg. contiene de 1200-3000 semillas. La viabilidad de la semilla fresca varía de 60-90% y la mantienen de 6-12 meses a condiciones ambientales. Se pueden almacenar por hasta 5 años a 4°C y con un 5-6% de contenido en humedad. Minación a bolsas a los 2 meses, el tiempo requerido en un vivero es de al menos 4 meses, cuando las plantas alcanzan una altura de 20-25cm apropiadas para el traslado a su lugar definitivo en el campo.3



MANEJO.

Cuando se usa como árbol de sombra puede necesitar podas regulares. Cuando el árbol es joven tiene una gran capacidad de rebrote y si se corta produce varios ejes.₃

TURNO Y CRECIMIENTO.

En un ensayo de 4 años mostró un crecimiento moderado, con una altura promedio de 5.9m. En un suelo franco arcilloso, pH 6.5-7.2 y 2500 árboles los crecimientos medios anuales a los 3 años de edad fueron de 1.7cm en diámetro y de 2.0m en altura, con una productividad de 10.8m, la supervivencia fue del 95%. La especie pierde las hojas por un breve período en la estación seca y las vuelve a reponer en poco tiempo.₃

BENEFICIOS DEL CARAO.

- 1) La pulpa de las vainas es un alimento riquísimo. De esa pulpa se hace una miel, con leche, es una bebida rica que se llama "sandalada". Por tener mucho hierro y vitaminas, la sandalada quita la anemia. Es buena para todos especialmente para los niños y para las mujeres embarazadas, razón que le atribuye a esta parte de la planta ser la más utilizada por la población.
- 2) Su amplia copa y follaje denso, ofrecen una excelente sombra y cobertura para la protección de los suelos en contra de la erosión ocasionada por el viento y la lluvia.
- 3) El árbol se puede reproducir por medio de postes vivos extraídos de ramas, para la construcción de las cercas vivas de muchas fincas. Sin embargo esta práctica no es muy común ya que otras especies de árboles como del madero negro y el poro gigante ofrecen mucho mejores cualidades para este fin, como crecimiento más rápido y mayor porcentaje de supervivencia.
- 4) La madera posee un alto poder calórico y tradicionalmente ha sido una muy importante fuente de leña para el uso doméstico.
- 5) Los grandes frutos son muy ricos en proteínas y son una importante fuente de alimento para la vida silvestre durante la estación seca. También son comidos ávidamente y enteros por caballos, vacas, cerdos, cabras y ovejas. Hemos observado que las gallinas se alimentan de pulpa fresca.



- 6) La pulpa líquida contenida en el interior de los frutos es utilizada como bebida y es un importante recurso nutritivo para los seres humanos. ¡ATENCIÒN ¡El consumo de esta pulpa sin embargo debe ser moderado ya que también posee reconocidas propiedades digestivas como un laxante eficaz.
- 7) La ceniza de la madera se emplea para hacer jabón aunque cada vez con menos frecuencia.
- 8) La pulpa azucarada color café que rodea a las semillas se usa como sustituto de chocolate.
- 9) La acción de la hoja con sal se bebe para males del tracto digestivo.
- 10) Lavados y masajes con las hojas molidas para la picazón en la piel. 3

OTROS USOS MEDICINALES ATRIBUIDOS AL CARAO.

- 1. La decocción de hojas, frutos y cortezas se usa por vía oral para hemorragia nasal, enfermedades del hígado, infección urinaria, resfríos y tos. Por vía tópica se aplica un ungüento de hojas para tratar afecciones dermatomucosas (herpes, llagas, tiña.) de la raíz se extrae un líquido antiséptico utilizado en las curas de heridas, la corteza es utilizada como cicatrizante.
- 2. A las hojas y frutos se les atribuye propiedades antianémicas, antimicóticos, antisépticas, astringentes, depurativas, diuréticas, estimulantes, expectorantes, laxantes, mineralizantes, purgantes y sedantes. A la raíz se le atribuye propiedad purgante y tónica.₃

JARABES.

Son preparaciones acuosas, límpidas, y de elevada viscosidad, que contiene un azúcar, generalmente sacarosa, en concentración similar a la de saturación.

Si el agente edulcorante es la sacarosa, la densidad del jarabe es 1.313 a 15°C-20°C; el punto de ebullición 105°C y el contenido en sacarosa 64-65% (p/p) que corresponde a 2/3 de sacarosa y 1/3 de agua.

ENSAYOS DE JARABES.

Al margen del ensayo general de identificación y valoración del fármaco o fármacos que contienen, se realizan los siguientes ensayos:



- 1. Densidad.
- 2. Punto de ebullición.
- 3. Viscosidad.
- 4. Sacarosa y azúcar invertido.
- 5. Edulcorante. 5

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.

Materia prima (período pre y post-cosecha).

Los productos fitoterapéuticos son obtenidos a partir de las plantas cultivadas o silvestres, por tal motivo las posibilidades de contaminación microbiana son altas. Un apropiado proceso de recolección, cultivo, cosecha, secado, corte y almacenamiento es esencial para garantizar la calidad de los mismos.

Niveles microbianos.

Las recomendaciones sobre la calidad microbiológica de los fitomedicamentos se encuentran dadas en el texto sobre "calidad microbiológica de las preparaciones farmacéuticas" (Farmacopea Británica Armonizada, apartado 5.1.4 categoría 4) la categoría 4 es para fitomedicamentos que contienen una o más drogas (ya sea enteras, fragmentadas o en polvos) y se divide en dos categorías:

- 1. Fitomedicamentos a los que se les añade agua hirviendo antes de su uso:
 - a. Conteo total aerobio. No más de 10⁷ bacterias aeróbicas y no más de 10⁵ hongos/g o por ml (Apéndice XVI B2 Farmacopea Británica).
 - b. No más de 10² Escherichia coli/g o por ml, utilizando las diluciones apropiadas (Apéndice XVI B1, Farmacopea Británica).
- 2. Fitomedicamentos a los que no se les agrega agua hirviendo antes de utilizarse:
 - a. Conteo total de aerobios. No más de 10 bacterias aeróbicas y



no más de 104 hongos/g o por ml (Apéndice XVI B2, Farmacopea Británica).

- b. No más de 10³ enterobacterias y cierta otras gram negativas/g o por ml (Apéndice XVI B1, Farmacopea Británica).
- c. Ausencia de Escherichia coli (1g o 1ml) Apéndice XVI B1.
- d. Ausencia de Salmonella spp. (10g o 10ml) Apéndice XVI B1. 6

LÌMITE MICROBIANO.

Es un conjunto de pruebas utilizadas para estimar el número de microorganismos aerobios viables presentes y para determinar la ausencia de especies microbianas designadas en artículos farmacéuticos de todo tipo, desde materias primas hasta productos finales. Pueden utilizarse otros métodos automatizados en lugar de las pruebas que se presentarán posteriormente, siempre y cuando se hayan validado debidamente, comprobando que sus resultados son equivalentes o superiores.

Recomendaciones generales:

- 1.- Durante la preparación y la realización de las pruebas, deben tomarse las precauciones asépticas necesarias para la manipulación de las muestras.
- 2.- A menos que se indique algo diferente, cuando el procedimiento especifique simplemente incubar, mantener el envase en aire que esté termostáticamente controlado a una temperatura entre 30°C y 35°C, durante un período de 24 a 48 horas.
- 3.- El tiempo transcurrido desde la preparación de la primera dilución hasta su incorporación con el medio de cultivo no debe exceder de una hora.
- 4.- El término crecimiento se usa aquí con un sentido especial, es decir, para designar la presencia y supuesta proliferación de microorganismos viables.

Pruebas preparatorias.

La validez de los resultados de las pruebas que se describen dependen en gran medida de que pueda demostrarse de manera adecuada que las



muestras a las que se aplican no inhiben, por si solas, la multiplicación, bajo las condiciones de la prueba, de los microorganismos que pudieran estar presentes. En consecuencia, antes de realizar una prueba de manera periódica según las circunstancias lo exijan posteriormente, las muestra diluidas del material que se desea analizar se deben inocular con cultivos viables de *Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa* y *Salmonella spp* separados. Esto se puede lograr agregando 1 ml de una dilución de no menos de 10⁻³ de un caldo de cultivo de 24 horas del microorganismo a la primera dilución (en solución *amortiguadora de Fosfato de pH 7.2, Medio Líquido de Caseína-Soja, o Medio Líquido de Lactosa) del material de prueba y siguiendo el procedimiento de prueba. Si el o los microorganismos no crecen en el medio utilizado, queda invalidada esa parte del análisis y debe modificarse el procedimiento ya sea por:*

- 1) Mediante un aumento en el volumen de diluyente, manteniendo la misma cantidad de material de prueba.
- 2) Mediante la incorporación de una cantidad suficiente de agentes inactivantes adecuados en los diluyentes.
- 3) Mediante una combinación apropiada de las modificaciones indicadas en 1 y 2 para permitir el crecimiento de los inóculos.

Los siguientes son ejemplos de ingredientes que pueden agregarse al medio de cultivo, y de las concentraciones respectivas para neutralizar las sustancias inhibidoras presentes en la muestra:

<u>Ingrediente</u>	<u>concentración</u>
Lecitina de Soja	0.5%
Polisorbato 20	4.0%

Como alternativa, se puede repetir la prueba según fue descrito anteriormente, utilizando *Medio Líquido de Digerido de Caseína-Lecitina de Soja- Polisorbato 20* para demostrar la neutralización de los conservantes y otros agentes antimicrobianos presentes en el material de prueba. En aquellos casos en que el producto contenga sustancias inhibidoras y sea soluble, puede utilizarse una adaptación validada, adecuada, de uno de los procedimientos que se describen en el apartado *Filtración por membrana en prueba de esterilidad del producto a examinar en pruebas de esterilidad (71).*

Si a pesar de la incorporación de agentes inactivantes apropiados y de aumento sustancial del volumen de diluyente, aún no es posible recuperar



los cultivos viables descritos anteriormente y si no es posible utilizar el método de filtración por membrana con ese artículo, puede suponerse que la imposibilidad de aislar el microorganismo inoculado es atribuible a la actividad bactericida del producto. Esta información permite deducir que no es probable que el artículo se contamine con esa determinada especie de microorganismo. Deberá realizarse un seguimiento continuo para determinar el espectro de inhibición y la actividad bactericida del artículo.

MUESTREO.

Proporcionar muestras de 10 ml o 10 gramos para cada una de las pruebas requeridas en la monografía correspondiente.

PROCEDIMIENTO.

Preparar la muestra que se desea analizar con un tratamiento apropiado a sus características físicas y que no altere el número y tipo de microorganismos presentes originalmente, a fin de obtener una solución o suspensión de la totalidad o parte de la muestra que sea adecuada para el o los procedimientos de prueba que se deben llevar a cabo.

En el caso de los sólidos que se disuelven en gran medida pero no totalmente, reducir la sustancia a un polvo moderadamente fino, suspenderlo en el vehículo especificado y proceder según se indica en Recuento Total de Microorganismos Aerobios y en Prueba para determinar la ausencia de Staphylococcus aureus y Pseudomona aeruginosa y Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli.

En el caso de muestras líquidas que consiste en una solución verdadera o una suspensión en agua o un vehículo hidroalcohólico que contenga menos de 30% de alcohol y para aquellos sólidos de disolución fácil y casi total en 90 ml de Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7.2 o en los medios especificados, proceder según se indica en Recuento Total de Microorganismos Aerobios y en Prueba para determinar la ausencia de Staphylococcus aureus y Pseudomona aeruginosa y Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli.

En el caso de ceras, cremas, ungüentos y líquidos inmiscibles con agua, preparar una suspensión con ayuda de una cantidad mínima de un agente emulsionante estéril adecuado (por ejemplo, uno de los polisorbatos), utilizando un mezclador mecánico y calentando a una temperatura que no exceda de 45°C, si fuera necesario, y proceder con la suspensión según se indica en Recuento Total de Microorganismos Aerobios y en Prueba para determinar la ausencia de Staphylococcus aureus y Pseudomona aeruginosa y Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli.



Para una muestra líquida en forma de aerosol, enfriar el envase en una mezcla de alcohol y hielo seco durante aproximadamente 1 hora, abrir el envase, dejar que alcance temperatura ambiente, dejar que el propelente escape, o entibiar para expulsar el propelente si fuera factible, y transferir la cantidad de material de prueba requerida para los procedimientos especificados en uno de los dos párrafos precedentes, según corresponda. Cuando no se pueden obtener 10,0 gramos o 10,0 ml de la muestra, según corresponda, de 10 envases en forma de aerosol, transferir la totalidad del contenido de 10 envases enfriados al medio de cultivo, dejar que el propelente se escape y proceder a realizar la prueba a los residuos. Si los resultados de la prueba no fueran concluyentes o fueran dudosos, repetir la prueba con una muestra de 20 envases más.

Recuento Total de Microorganismos Aerobios.

En el caso de muestras que son lo suficientemente solubles o translúcidas para permitir el uso del *Método en Placa*, usar dicho método; de lo contrario, usar el *Método en Tubos Múltiples*. Con cualquiera de los métodos, primero disolver o suspender 10,0 gramos de la muestra si es sólida o 10 ml, medidos con exactitud, si la muestra es líquida, en *Solución Amortiguadora de Fosfato de pH 7.2, Medio Líquido Digerido de Caseína-Soja o Medio Líquido Digerido de Caseína-Lecitina de Soja-Polisorbato 20 para obtener 100 ml. En el caso de muestras viscosas que no se puedan pipetear y transferir a esta dilución inicial de 1:10, diluir la muestra hasta obtener una suspensión, es decir, 1:50 ó 1:100, etc, que pueda pipetearse. Realizar la prueba para determinar la ausencia de propiedades inhibidoras (antimicrobianas) según se describen en <i>Pruebas Preparatorias* antes de determinar el *Recuento Total de Microorganismos Aerobios.* Agregar la muestra al medio a más tardar una hora después de preparar las diluciones apropiadas para inoculación.

Método en Placa.

Diluir el líquido aún más, si fuera necesario, para que 1 ml permita obtener entre 30 y 300 colonias. Pipetear 1 ml de la dilución final y transferir a dos cajas de Petri estériles. Agregar de inmediato, a cada placa, de 15 a 20 ml de *Medio Agar Digerido de Caseína-Soja*, previamente fundido y enfriado aproximadamente a 45°C. Cubrir las placas de Petri, mezclar la muestra con agar inclinado ligeramente o rotando suavemente las placas y dejas que el contenido se solidifique a temperatura ambiente. Invertir las placas de Petri e incubar durante 48 a 72 horas a una temperatura de 35° C +/- 2°C.



Una vez finalizada la incubación, examinar las placas para verificar el crecimiento de microorganismos, contar el número de colonias y expresar el promedio de las dos placas en término de número de microorganismos por gramo o por ml de muestra. En caso de no recuperarse colonias microbianas de las placas que representen la dilución inicial 1:10 de la muestra, expresar los resultados como menos de 10 microorganismos por gramo o por ml de la muestra.

Método en Tubos Múltiples.

En cada uno de los 14 tubos de ensayos de tamaño similar, colocar 9.0 ml de Medio Líquido de Digerido de Caseína Soja. Distribuir doce de los tubos en cuatro grupos de tres tubos cada uno. Separar un grupo de tres tubos para utilizarlo como control. Pipetear 1ml de la solución o suspensión de la muestra y transferir a cada uno de los tres tubos de un grupo (" 100 ") y a un cuarto tubo (A), y mezclar. Pipetear 1ml del tubo A y transferir al tubo restante (B), no incluido en un grupo, y mezclar. Estos dos tubos contienen 100 mg (o 100 µL) y 10 mg (o 10 µL) de la muestra, respectivamente. Pipetear 1ml del tubo A y transferir a cada uno de los tres tubos del segundo grupo ("10") y pipetear 1ml del tubo B y transferir a cada tubo del tercer grupo ("1"). Desechar el contenido no utilizado de los tubos A y B. Cerrar bien e incubar todos los tubos. Una vez transcurrido el periodo de incubación, examinar los tubos para verificar el crecimiento de los microorganismos: Los tres tubos de control se mantienen transparentes y los resultados observados en los tubos que contienen la muestra, interpretados según la Tabla 1, indican el número más probable de microorganismos por gramos o por mililitros de muestra.

Pruebas para Staphylococcus aureus y Pseudomonas aeruginosa.

Agregar Medio Líquido de Digerido de Caseína-Soja a la muestra para obtener 100 ml, mezclar e incubar. Examinar el medio para verificar el crecimiento y, si hubiera crecimiento utilizar un asa de inoculación para realizar estrías con una porción del medio sobre la superficie del Medio Agar de Vogel-Jonson (o Medio Agar de Baird-Parker o Medio Manitol-Agar Salado) y del Medio Agar Cetrimida, cada uno de ellos colocado en placas Petri. Cubrir las placas, invertirlas e incubar.

Si al examinarlas, ninguna de las placas contiene colonias con las características enumeradas en las *tablas 2 y 3* para los medios utilizados, la muestra de prueba cumple con los requisitos de ausencia de *Staphylococcus aureus* y *Pseudomona aeruginosa.*



Prueba de Coagulasa (para Staphylococcus aureus).

Con la ayuda de un asa de inoculación, transferir colonias sospechosas representativas desde la superficie de agar del Medio Agar de Vogel-Johnson (o Medio Agar de Baird Parker o Medio Manitol Agar Salado) a tubos individuales, que contengan cada uno 0.5 ml de plasma de mamífero, preferentemente de conejo o caballo, con o sin aditivos adecuados. Incubar en un baño de agua a 37°C, examinando los tubos a las 3 horas y posteriormente a intervalos adecuados hasta 24 horas. Analizar los controles positivos y negativos simultáneamente con las muestras desconocidas. Si no se observa ningún grado de coagulación, la muestra cumple con los requisitos para confirmar la ausencia de *staphylococcus aureus*.

Prueba de Oxidasa y de Pigmentos (para determinar la ausencia de *Pseudomona aeruginosa*).

Con la ayuda de un asa de inoculación, realizar estrías de las colonias sospechosas representativas, tomadas de la superficie de agar del Medio Agar Cetrimida, sobre las superficies de agar del Medio Pseudomonas agar para la Detección de Fluorescencia y del Medio Pseudomonas agar para la detección de Piocianina contenidas en las placas de Petri. Si debe transferirse un número grande de colonias sospechosas, dividir la superficie de cada placa en cuadrantes e inocular cada uno con una colonia diferente. Cubrir las placas, invertir el medio inoculado, e incubar a 35°C +/- 2°C durante no menos de 3 días. Examinar las superficies estriadas bajo luz UV. Examinar las placas para determinar si hay colonias presentes con las características enumeradas en la tabla 3.

Por medio de la prueba de oxidasa, confirmar si un crecimiento de colonias sospechosas en uno o más medios corresponde a *Pseudomona aeruginosa*. Una vez que haya tenido lugar el crecimiento de colonias, colocar o transferir las colonias a tiras o discos de papel de filtro que se han impregnado previamente con diclorhidrato de N,N-dimetil-*p*-fenilendiamina: si no aparece un color rosado, que se torna púrpura, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Pseudomona aeruginosa*. La presencia de *Pseudomona aeruginosa* se puede confirmar mediante otras pruebas bioquímicas y de cultivos adecuadas, si fuera necesario.



Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp y Escherichia coli.

Agregar a la muestra, que está contenida en un vaso adecuado, un volumen de Medio Líquido de Lactosa para obtener 100 ml e incubar. Examinar el medio para verificar el crecimiento y, si hubiera crecimiento,

mezclar agitando suavemente. Pipetear porciones de 1 ml y transferir a vasos que contengan, respectivamente, 10 ml de Medio Líquido de Selenito –Cistina y de Medio Líquido de Tetrationato, mezclar e incubar durante 12 a 24 horas (conservar el remanente del Medio Líquido de Lactosa).

Prueba para determinar la ausencia de Salmonella spp.

Por medio de un asa de inoculación, realizar estrías de los medios de Selenito-Cistina y de Tetrationato sobre la superficie del Medio Agar Verde Brillante, del Medio Agar con Xilosa-Lisina-Desoxicolato y del Medio Agar con Sulfito de Bismuto contenidos en placas de Petri. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción que aparece en la *tabla 4*, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del género *Salmonella*.

Si se encuentran colonias de bastones gram negativos que se ajustan a las descripciones de la *tabla 4*, proceder con una identificación adicional transfiriendo colonias sospechosas representativas individualmente, por medio de un alambre de inoculación, a un tubo inclinado de Medio Agar —Triple Azúcar-Hierro estriando primero la superficie inclinada y luego clavando el alambre bien por debajo de la superficie. Incubar. Si en el examen no se hallan indicios de que los tubos presentan líneas oblicuas alcalinas(rojas) y extremos ácidos (amarillos), (con o sin ennegrecimiento concomitante de los extremos por producción de Sulfuro de Hidrógeno), la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia del género *Salmonella*.

Prueba para determinar la ausencia de Escherichia coli.

Con ayuda de un asa de inoculación, hacer estrías con una porción del Medio Líquido de Lactosa restante sobre la superficie del Medio Agar de MacConkey. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinar las placas, si ninguna de las colonias se ajusta a la descripción que aparece en la *tabla 5* para este medio, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de *Escherichia coli*.



Si se encuentran colonias que se ajustan a la descripción que aparece en la tabla 5, proceder con una identificación adicional, transfiriendo las colonias sospechosas individualmente, por medio de un asa de inoculación, a la superficie de Medio Agar de Levine con Eosina-Azul de Metileno colocados en placas de Petri. Si debe transferirse un número grande de colonias dividir la superficie de cada placa en cuadrantes y sembrar cada uno de ellos con una colonia diferente. Cubrir las placas, invertirlas e incubar. Al examinarlas si ninguna de las colonias exhibe un brillo metálico característico bajo luz reflejada y si ninguna de ellas presenta una apariencia negro azulada bajo la luz transmitida, la muestra cumple con los requisitos de la prueba para determinar la ausencia de Escherichia coli. La presencia de Escherichia coli se puede confirmar mediante otras pruebas adicionales bioquímicas y de cultivos adecuadas, si fuera necesario.

Recuento Total Combinado de Hongos y Levaduras.

Proceder como se indica en el Método en Placa, en Recuento Total de Microorganismo Aerobio, excepto que se debe utilizar la misma cantidad de Medio Agar Dextrosa de Sabouraud o Medio Agar Papa Dextrosa, en lugar de Medio de Digerido de Caseína-Soja y se deben incubar las placas de Petri invertidas durante 5 a 7 días a una temperatura de 20°C a 25°C.

Repetición de la prueba.

A fin de confirmar un resultado dudoso mediante cualquiera de los procedimientos descritos en las pruebas anteriores después de su aplicación a una muestra de 10,0 gramos, puede realizarse una nueva prueba en una muestra de 25 gramos de producto. Proceder como se indica en *Procedimiento* teniendo en cuenta que la muestra es más grande. 7



MATERIAL Y MÉTODO.

❖ DISEÑO METODOLÓGICO.

Tipo de estudio: El presente estudio es de tipo cuasi-experimental.

Área de estudio: Departamento de análisis de drogas y medicamentos, área de microbiología, ubicado en el segundo piso de la Facultad de Ciencias Químicas, Campus Médico, UNAN-LEÓN.

Universo: Jarabes de carao existentes en los centros naturistas de la ciudad de León.

Muestra: 10 frascos de jarabe de carao.

Unidad de análisis: Jarabe de carao.

Tipo de muestreo: no probabilístico por conveniencia, debido a que permite establecer criterios para seleccionar la muestra así como los que nos planteamos y exponemos posteriormente en este estudio.

Mediante una entrevista realizada a los dueños de centros naturistas de la ciudad de León, nos informamos cuál era el jarabe de carao más demandado por la población, procediendo a comprar los 10 frascos de jarabe de un mismo número de lote para realizar el ensayo.

Criterios de inclusión:

- Jarabe de carao más utilizado por la población.
- Jarabe de carao sin registro sanitario.

Criterios de exclusión:

- Jarabes de carao comercializados fuera de la cuidad de León.
- Jarabes de carao menos utilizado por la población.
- Jarabes de carao que se comercializan ambulatoriamente y en mercados de la ciudad de l eón.



❖ MATERIAL Y EQUIPO.

En el desarrollo de la parte experimental se utilizó el siguiente equipo de laboratorio:

- Cristalería.
- Cocina.
- Incubadora.
- Balanza.
- Autoclave.
- Horno.
- Mechero.
- pHmetro.
- Agitador eléctrico.

Equipo metálico:

- Espátula.
- Asa de Henle.
- Gradillas metálicas.

Material de laboratorio descartable:

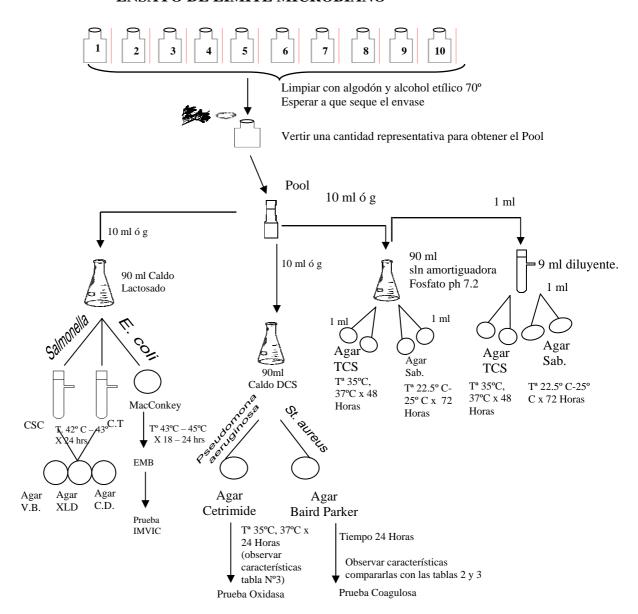
- Algodón.
- Papel de aluminio.
- Guantes.
- Boquillas.
- · Zapatos quirúrgicos.
- Gorros quirúrgicos.

Reactivos:

- Tripticaseína-Soja Agar.
- Selenito-Cistina.
- Sabouraud Agar.
- Caldo Tripticaseína Soja.
- Agar EMB.
- Caldo Lactosa.
- Agar Baird Parker.
- Agar Cetrimide.
- Fosfato Monobásico.
- Agar Salmonella-Shiguella.



PROCEDIMIENTO ENSAYO DE LÍMITE MICROBIANO



Nota: Buscar en el glosario el significado de las abreviaturas.



RESULTADOS.

Al realizar el límite microbiano bajo las condiciones experimentales necesarias a los 10 frascos del jarabe de carao (*Cassia grandis L.*) con mayor demanda por la población, el cual es comercializado en los diferentes centros naturistas de la ciudad de León se obtuvieron los siguientes resultados:

Tipo de análisis: Límite microbiológico.	Resultado del ensayo	Especificaciones de la Farmacopea USP 29.
Bacterias Aerobias Mesòfilas (BAM)	Menos de 10 UFC/ml	No más de 100 UFC/ml
Staphylococcus aureus.	ausencia	ausencia
Pseudomona aeruginosa.	ausencia	ausencia
Escherichia coli.	ausencia	ausencia
Salmonella spp.	ausencia	ausencia
Recuento de hongos y levaduras.	Menos de 10 UFC/ml.	No más de 10 UFC/ml

- La presencia de Bacterias Aerobias Mesófilas fue menor de 10 UFC/ml de la muestra.
- Al utilizar los medios selectivos para la detección de Bacterias Patógenos: Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus y Salmonella spp la muestra no presentó crecimiento de ellas.
- ❖ Al finalizar el período de incubación de hongos y levaduras se obtuvo menos de 10UFC/ml de de jarabe de carao.



DISCUSIÓN.

- ❖ Terminado el período de incubación de la muestra, en el Caldo Lactosado y en el Caldo Digerido Caseína-Soja, no se podía observar si los caldos presentaban o no turbidez, precipitación o floculación debido a las características físico-químicas del producto (viscosidad, coloración) razón por la cual se procedió a inocular en medios selectivos:el medio selectivo Baird Parker mostró ausencia de colonias, lo que corrobora ausencia de Staphylococcus aureus, en el agar EMB no se observó colonias características de Escherichia coli, de igual manera sucedió con el agar Cetrimide para Pseudomona aeruginosa y en el agar SS para Salmonella Shiguella.
- ❖ Posterior a la transferencia de 1ml de la solución amortiguadora de Fosfato por duplicado a las placas Petri y realizar el control ambiental y esterilidad del medio, se procedió a agregar los medios agar Tripticaseìna Soja y agar Sabouraud a las placas correspondientes homogenizadas con movimientos suaves en forma de 8,transcurrido el tiempo de solidificación se incubó, observándose 48 horas después ausencia de Bacteria Aerobias Mesòfilas en el agar Tripticaseìna Soja y ausencia de hongos y levaduras en el agar Sabouraud 72 horas después de su incubación.
- ❖ De acuerdo a los resultados obtenidos se cree que la materia prima fue recolectada, en el tiempo y de la manera adecuada, al igual que la selección, almacenamiento y conservación de la misma.
- ❖ La ausencia de microorganismos en el ensayo de agente conservador es debido a que la muestra contiene un alto porcentaje de azúcar, sustancia que además de edulcorar el producto tiene la propiedad de ejercer una actividad antimicrobiana por elevar la presión osmótica, factor que dificulta la sobrevivencia de la mayoría de microorganismos.
- ❖ A pesar que el Ministerio de Salud no lleva un seguimiento tan exigente en lo que se refiere a control de calidad del fitofàrmacos, es presumible que el laboratorio fabricante de este producto analizado lleve a cabo las buenas prácticas de manufactura.



CONCLUSIÓN.

Previo a la realización del análisis de límite microbiano a las muestras de jarabe de carao (*Cassia grandis L.*) se detectó la ausencia de agente conservador, lo que permitiò llevar a cabo el ensayo y emitir la siguiente conclusión:

- En la muestra analizada no se encontró la presencia de Bacterias Aerobias Mesòfilas.
- En el caso de Bacterias patógenas (Escherichia coli, Pseudomona aeruginosa, Staphylococcus aureus y Salmonella spp.), hay ausencia de estos microorganismos.
- ❖ El fitofàrmaco analizado en este estudio no presenta hongos y levaduras.

Por tanto, el jarabe de carao *(Cassia grandis L.)* analizado en el estudio cumple con las especificaciones establecidas en la Farmacopea USP 29.



RECOMENDACIONES.

- Que el Ministerio de Salud como ente regulador de control de calidad de los medicamentos exija y compruebe la existencia de registro sanitario a los fitofármacos.
- Realizar este tipo de ensayos a otros fitofármacos que no presenten registro sanitario, para comprobar su calidad, ya que si bien es cierto el presente trabajo evidencia un producto que cumple con los criterios de calidad microbiológica según la USP 29, pero es posible que otros no obtengan los mismos resultados y pongan en riesgo la salud de la población.



BIBLIOGRAFÍA.

- 1. Álvarez Herrera, Juan Pablo. Lista básica de plantas medicinales y su uso farmacológico en Nicaragua. 1985. Paginas 3,4,5,6.
- 2. Mayorga Rodríguez, Ibas. Estudio bromatológico del Carao (Cassia grandis). León, Nicaragua. UNAN 1971.
- 3. www.acguanacaste.ac.cr/paginas_especie/plantae_online/magnoliophyta/fabaceae/cassia_grandis/c-grandis12 jun98/c_grandis12 jun1998.html.
- 4. Salas Estrada, Juan Bautista. Árboles de Nicaragua. Editorial Hispamer. Managua, Nicaragua. Instituto nicaragüense de recursos naturales y del ambiente IRENA, 1993. Paginas 11,12.
- 5. Vila Jato, José Luís. Tecnología farmacéutica: formas farmacéuticas volumen II. Editorial Síntesis S.A. primera edición. Mayo 2001. Paginas 27, 42, 43, 44.
- Solís N. Pablo, Guerrero de Solís. Nilka, Gattuso Susana, Cáceres Armando. Manual de caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Organización de los Estados Unidos Americanos. Paginas 84-93.
- 7. Farmacopea de los Estados Unidos de América. The United States Pharmacopeial Convention. USP 29. Tomo 3. Estados Unidos de América 2006, pág. 2723, 2726 2728.
- 8. Floripe Fajardo, Alejandro. Salud, plantas medicinales. Primera edición. Managua, 1998.
- 9. www.natureduca.com/botan_defin_diccionario3htm.
- 10. www.retamatour.com/web/02web/flora/textos/diccionario.htm



Tabla 1. Control Total más Probable por métodos de los tubos múltiples.

Combinaciones observadas de cantidad de tubos que muestran crecimiento en cada conjunto.		NMP de microorganismos/g o por ml.	
Número de n	ng (o ml) de mue	stra por tubo	_
100 (100 µl)	10 (10 µl)	1 (1 µl)	
3	3	3	> 1100
3	3	2	1100
3	3	1	500
3	3	0	200
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	90
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	70
3	1	0	40
3	0	3	95
3	0	2	60
3	0	1	40
3	0	0	23

Tabla 2. Características Morfológicas del *Staphylococcus aureus* en Medio Selectivo.

Medio Selectivo	Agar Vo	gel-	Agar Mai	nitol-Sal	Agar Ba	ird-Parker
	Johnson					
Características morfológicas de las colonias	Colonias neg redondeadas una zona ama		Colonias amarillas zonas an	con	Colonias brillantes rodeada zonas 2-5 mm	s, por
Tinción de Gram	Cocos positi	ivos	Cocos	positivos	Cocos	positivos
	(en racimos)		(en racim	nos)	(en racir	nos)

Tabla 3. Características Morfológicas de *Pseudomonas aeruginosa* en Medio Selectivo.

Medio Selectivo	Agar Cetrimida	Agar de	Agar de
		Pseudomonas	Pseudomonas
		para detección de	para detección de
		fluorescencia	Piocianina
Características	Generalmente	Generalmente	Generalmente
morfológicas de	verdes	incoloras a	verdes
las colonias		amarillentas	
Fluorescencia	Verde	Amarillenta	Azul
bajo LUV			
Prueba de	Positiva	Positivo	Positivo
oxidasa			
Tinción de Gram	Bacilos negativos	Bacilos negativos	Bacilos negativos

Tabla 4. Características Morfológicas de especies de *Salmonella* sobre Agar Selectivo.

Medio	Descripción de las colonias		
Agar verde brillante	Pequeñas. Transparentes, incoloras o rosada a blanco opaco (frecuentemente rodeada por un área color rosado a rojo)		
Xilosa-lisina-desoxicolato	Rojas con o sin centros negros		
Agar sulfito de bismuto	Negras o verdes		

Tabla 5. Características Morfológicas de *Escherichia coli* sobre Agar MacConkey.

Morfología característica	Rojo ladrillo, pueden presentar un	
de la colonia	área circundante de bilis	
	precipitada	
Tinción de Gram	Bacilos negativos (cocos-bacilos)	

ENTREVISTA.

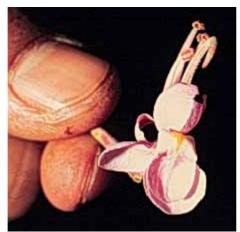
La presente fue llevada a cabo, con el objetivo de determinar que tipo de jarabe de carao es el más comercializado a la población en centros naturistas de la ciudad de León, en el mes de Enero 2007.

- ❖ ¿Tiene en su establecimiento jarabe de carao?
- ❖ ¿Cuáles son los jarabes de carao que está comercializando?
- ¿Cuáles son los precios de los jarabes de carao que tiene a la venta?
- ❖ ¿Cuál es el jarabe de carao más demandado por la población?



Flor:

Las inflorescencias son racimos terminales y axilares de flores rosadas a lo largo de toda la rama. Tienen un aroma dulce. Florece en marzo.









Fruto:

Una legumbre muy grande (55-65 cm de largo) color café oscuro, indehiscente. Tiene una sustancia melosa color café oscuro por dentro del fruto que es dulce y un poco astringente.







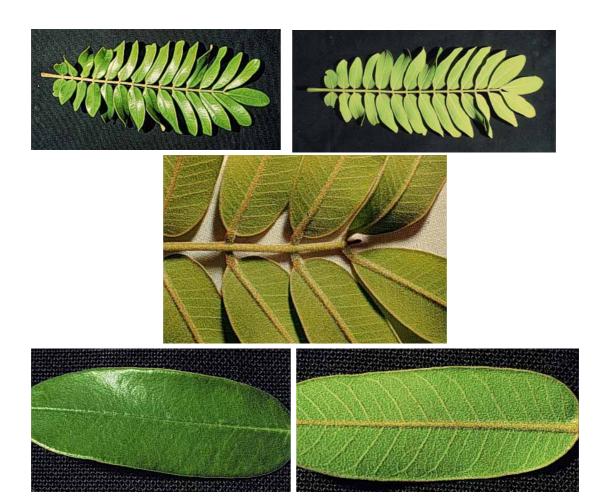


Aspecto del fruto y las semillas



Hojas:

Paripinnadas, alternas 18-30 hojuelas de forma ovalada y margen entero. El envés es tomentoso.





Corteza y madera:

De color gris y textura áspera.







Aspecto de la corteza



Planta entera:

Árbol de 12-17 m de altura y 60 cm de diámetro.







GLOSARIO.

Aerobias: microorganismos que medran en presencia del oxígeno del aire.

Agar CD: agar citrato desoxicolato.

Agar TCS: agar tripticaseina soja.

Agar Sab.: agar sabouraud.

Agar VB: agar verde brillante.

Agar XLD: agar xilosa, lisina, desoxicolato.

Albura: capa blanda de la madera de los árboles, de color blanquecino, situada entre la corteza y el duramen. La albura está compuesta por células vivas y materias de reserva.

Antraquinonas: compuesto orgánico aromáticos un sólido cristalino, amarillo, que se sintetiza industrialmente mediante una reacción Friedel-Crafts. Es un producto importante en la fabricación de colorantes.

Caducifolia: árbol y planta de hoja caduca. Las caducifolias pierden sus hojas en otoño.

CDS.: Caldo digerido de caseína soja.

Centro naturista: todo establecimiento en que se comercializan fitofármacos o productos naturales.

Coleóptero: orden de insectos masticadores que poseen un caparazón duro y dos alas también duras, llamadas élitros, que cubren a su vez dos alas membranosas, como el escarabajo o la mariquita. Son el orden de animales más amplio del mudo.



CSC: Caldo selenito-cistina.

CT: caldo tetrationato.

Corola: cubierta o verticilo interior de las flores completas, que protegen los órganos de la reproducción.

Duramen: parte central, más seca, dura y oscura del tronco y de las ramas más gruesas de un árbol.

EMB: eosina azul de metileno.

Familia: Unidad sistemática de las clasificaciones por categorías taxonómicas que comprende un conjunto de géneros todos los cuales tienen en común diversas características importantes. Esta unidad ocupa una posición intermedia entre el orden y género. La terminación latina es "aceae".

Flavonoides: Sustancia que sirve para fortalecer los vasos capilares.

Foliolo: cada una de las hojuelas de una hoja compuesta.

Género: Conjunto de especies que tienen cierto número de características comunes.

IMVIC: Indol, rojo de metilo, Voges Proskauer, citrato de Simons.

Microorganismo: un organismo tan pequeño que no puede verse a simple vista, incluye bacterias, virus, protozoarios, hongos y algas unicelulares.

Paripinnada: hoja compuesta que tiene un número par de folìolos.

Polisacáridos: polímero formado por condensación de numerosas moléculas de monosacáridos.

Pool: mezcla de una cantidad considerable de todas las muestras de un mismo número de lote para hacer más representativa la muestra.

Pubescente: velloso, con pelo.

Racimo: inflorescencia indefinida con el eje alargado que lleva flores pediceladas.



Saponinas: Compuesto orgánico de origen vegetal clasificado como glucósido, tiene la propiedad de hacer espumas con agua, similar al jabón y algunos son de acción medicinal.

Vetas: faja o lista de una materia que se distingue de la masa en que se halla interpuesta. Ejemplo: vetas de la madera.