



UNIVERSIDAD DE MATANZAS
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



Caracterización fitoquímica y antimicrobiana de extractos de *Ricinus communis* L.



Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo

Autora: Gladys Sardiña Alfonso

Tutores:

MSc. Marlene Martínez Mora

MSc. Yunel Pérez Hernández

Julio, 2018

PENSAMIENTO

*Todo es hermoso y constante,
Todo es música y razón,
Y todo como el diamante,
Antes que luz es carbón.*

“José Martí”

Declaración de Autoridad

Declaro que yo, **Gladys Sardiña Alfonso**, soy la única autora de este Trabajo de Diploma, en calidad de lo cual autorizo a la Universidad de Matanzas a hacer uso del mismo con la finalidad que estime pertinente.

Firma

DEDICATORIA

A mis padres que son mi razón de ser.

A mi maravilloso esposo.

A este bebe que crece como una semillita dentro de mi vientre.

A toda mi familia.

A mis compañeros de aula con los que viví momentos inolvidables.

A todos los profesores que hicieron posible que me formara como una futura profesional.

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco con todo mi corazón a mis padres por ser mi motor impulsor, porque sin ellos nada hubiera sido posible, por apoyarme y guiarme siempre por el camino correcto, confiar en mí, darme todo el amor y el cariño.

A mi esposo por no dejar que me diera por vencida, por ser mi sostén y estar tanto en los malos como en los buenos momentos.

A mis magníficos tutores por no descuidarme ni un segundo, por estar presente en cada una de las actividades desarrolladas, aclarándome cualquier duda y brindarme su ayuda desinteresadamente para que este trabajo se desarrollara con la mayor calidad posible.

A mis compañeros de aula porque juntos formamos un gran equipo.

A todos los profesores que me impartieron clases en cada uno de los años de la carrera, por poner su mayor empeño en enseñarme y prepararme correctamente.

En fin, le agradezco a todas las personas que de una forma u otra aportaron su granito de arena para que mi gran sueño de ser una profesional algún día se hiciera realidad. Los voy a querer eternamente.

OPINIÓN DEL TUTOR

Por medio de la presente hacemos constar que el Trabajo de Diploma presentado en opción al título de Ingeniero Agrónomo titulado: “Caracterización fitoquímica y antimicrobiana de extractos de *Ricinus communis* L.”, es resultado de una labor científica de la aspirante Gladys Sardiña Alfonso.

La búsqueda de especies vegetales con propiedades antimicrobianas constituye un tópico importante en el campo de la agricultura y la medicina actual. El uso excesivo de antibióticos para el control de enfermedades infecciosas en animales de interés zootécnicos, ha despertado el interés de científicos a nivel mundial, debido al aumento de la resistencia a antibióticos convencionales. Cuando éstos se hacen inefectivos frente a patógenos comunes, se producen numerosas muertes lo que se traduce en pérdidas económicas en las entidades de productivas.

En este contexto, el presente trabajo tiene una gran vigencia ya que *Ricinus communis* L. es una planta rica en metabolitos secundarios con diversas funciones biológicas, que justifican los usos tradicionales de esta planta como antimicrobiana. Los resultados obtenidos en la presente investigación demuestran las potencialidades que tiene la higuera presente en la flora matancera, para el tratamiento de enfermedades bacterianas en humanos y animales de interés zootécnico.

El estudiante Gladys Sardiña Alfonso ha realizado una labor profesional y rigurosa durante el desarrollo de su Trabajo de Diploma. Demostró independencia y responsabilidad durante el trabajo práctico de laboratorio, que le permitió ejecutar las diferentes técnicas con un elevado rigor científico. El enfoque multidisciplinario del trabajo realizado permitió a la diplomante el desarrollo de diversas habilidades que le permitirán enfrentar nuevos retos en su vida profesional.

Tutores:

MSc. Marlene Martínez Mora

MSc. Yunel Pérez Hernández

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar las propiedades fitoquímicas y antimicrobianas de extractos de hojas de plantas de *Ricinus communis* L., presentes en la provincia de Matanzas. Para ello, las hojas de plantas sanas fueron lavadas y secadas en estufa a 45°C y luego maceradas. Las extracciones se realizaron en etanol al 90% y agua destilada y las mezclas se filtraron y concentraron. Se determinó la presencia de varias clases de metabolitos secundarios y se cuantificó el contenido de fenoles solubles, azúcares reductores, carbohidratos y proteínas solubles. Se evaluó la actividad antimicrobiana mediante la técnica de los pocillos, contra especies bacterianas Gram negativas y Gram positivas. Como resultado de la caracterización fitoquímica se observó la presencia de terpenos, flavonoides, taninos, cumarinas y saponinas, los cuales poseen diversas actividades biológicas. La presencia de compuestos polifenólicos sugiere el uso de esta especie como candidato farmacéutico para el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Se refirieron las concentraciones de azúcares reductores, carbohidratos y proteínas de esta especie como parte de la caracterización fitoquímica general. El solvente etanólico mostró contenidos superiores de metabolitos con respecto al extracto acuoso. El extracto etanólico de hojas manifestó una actividad antimicrobiana notable contra la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus*. Entre las bacterias Gram negativas muestreadas, los mejores resultados se obtuvieron frente a *Proteus* sp. Los resultados obtenidos indican un uso potencial de los extractos de *Ricinus communis* L. para el tratamiento de enfermedades como la mastitis u otros trastornos infecciosos e inflamatorios en animales.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
2.1. Las plantas como fuente de metabolitos secundarios de utilidad en la industria médico farmacéutica y en la agricultura.....	3
2.1.1. Desarrollo de la medicina moderna con el uso de las plantas superiores.....	4
2.2. Principales grupos de metabolitos secundarios.....	5
2.2.1. Los compuestos fenólicos o polifenoles. Características químicas y funciones en las plantas.....	6
2.2.1.1. Rutas biocinéticas de los compuestos fenólicos.....	6
2.2.1.2. Clasificación de los compuestos fenólicos.....	6
2.2.1.3. Los flavonoides. Características y funciones.....	8
2.2.1.4. Importancia de los compuestos fenólicos para el hombre.....	9
2.2.1.5. Las saponinas características y usos potenciales.....	11
2.3. Familia. Euphorbiaceae.....	13
2.3.1. La higuera (<i>Ricinus communis</i> L.)	13
2.3.1.1. Clasificación taxonómica.....	13
2.3.1.2. Características y usos etnobotánicos de <i>Ricinus communis</i> L.....	14
2.3.1.3. Usos etnobotánicos de <i>Ricinus communis</i> L.....	16
2.3.1.4. Estudios fitoquímicos de <i>Ricinus communis</i> L.....	17
2.3.1.5 Actividad antimicrobiana de <i>R. communis</i> L.	18
2.4. Enfermedades bacterianas producidas en animales de interés zootécnico.....	18
2.4.1. Enfermedades producidas por <i>Escherichia coli</i>	18
2.4.1.1. Diarreas en terneros.....	19
2.4.1.2. Colibacilosis en cerdos.....	20
2.4.1.3. Diarrea postdestete por <i>E. coli</i>	20
2.4.1.4. Impacto económico de la colibacilosis.....	21
2.4.2. Enfermedades producidas por <i>Staphylococcus aureus</i>	21
2.4.2.1. Mastitis bovina.....	22
2.4.2.2. Pérdidas económicas producidas por la mastitis.....	22
2.4.2.3. Tratamiento de la mastitis.....	23
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	24
3.1. Selección, identificación y caracterización del material vegetal.....	24
3.2. Preparación de los extractos.....	26

3.3. Análisis fitoquímico de los extractos.....	26
3.3.1. Análisis cualitativo de los metabolitos secundarios.....	26
3.3.2. Cuantificación de azúcares reductores.....	28
3.3.3. Contenido de proteínas solubles totales.....	28
3.3.4. Cuantificación de fenoles totales.....	29
3.4 Ensayo de actividad antimicrobiana.....	29
3.4 Diseño experimental y análisis estadístico.....	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1. Caracterización fitoquímica.....	31
4.2. Contenido de metabolitos primarios.....	34
4.2.1. Carbohidratos solubles totales y azúcares reductores.....	34
4.2.2. Contenido de proteínas solubles totales.....	36
4.2.3. Contenido de polifenoles totales.....	37
4.3. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de <i>R. communis</i> L.....	38
4.4. Valoración económica-ambiental del uso de los extractos de <i>R. communis</i> L.....	40
5. CONCLUSIONES.....	42
6. RECOMENDACIONES.....	43
7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	44

1. INTRODUCCIÓN

La resistencia a antibióticos en humanos y animales constituye una preocupación a nivel mundial (Westh *et al.*, 2004). Existe un incremento de la resistencia a microorganismos patógenos en años recientes, principalmente debido al uso indiscriminado de antibióticos comerciales empleados en el tratamiento de numerosas enfermedades infecciosas (Poonam y Pratap, 2012; AinilFarhan *et al.*, 2013). Esto conllevó a la búsqueda de nuevas sustancias con efecto antimicrobiano a partir de varias fuentes como las plantas medicinales. Las investigaciones enfocadas al descubrimiento de nuevos agentes antimicrobianos deben continuar mediante la evaluación de las diversas familias botánicas.

Las plantas medicinales poseen numerosos compuestos fitoquímicos, los cuales son utilizados como medicinas naturales para el tratamiento de infecciones comunes. La evaluación de los extractos y productos vegetales con actividad antimicrobiana demostraron que las plantas superiores representan una fuente potencial de nuevos prototipos de antibióticos (Afolayan, 2003).

Las euphorbiáceas incluyen numerosas especies a las cuales se les atribuyen diversos usos etnobotánicos como efectos antimicrobianos, antiinflamatorios, anticancerígenos, antivirales, antidiarreicos, así como para el control de plagas y enfermedades como los moluscos (Wang *et al.*, 2012; Barrueta *et al.*, 2017).

La higuera (*Ricinus communis* L.) es una especie de la familia *Euphorbiaceae* originaria del sureste Mediterráneo e India, pero se encuentra dispersa en diferentes regiones del trópico. Las diferentes partes de la planta se utilizan desde la antigüedad en el tratamiento de diferentes afecciones y se les atribuyen distintas actividades biológicas como analgésica, diurética, antidiarreica, antimicrobiana, hemolítica, entre otras (Rana *et al.*, 2012; Barisi y Omodele, 2014; Bereket *et al.*, 2014).

Problema científico:

Se desconocen las propiedades fitoquímicas y antimicrobianas de extractos de *Ricinus communis* L. presentes en la flora matancera.

Hipótesis científica:

El estudio fitoquímico y microbiológico de extractos de *Ricinus communis* L. presentes en la provincia de Matanzas, permitirá evaluar las propiedades que presenta esta especie para el control de enfermedades bacterianas y asociadas al estrés oxidativo.

Objetivo general:

Evaluar las propiedades fitoquímicas y antimicrobianas de extractos de *Ricinus communis* L. presentes en la provincia de Matanzas.

Objetivos específicos:

- ✓ Caracterizar las propiedades fitoquímicas de extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L.
- ✓ Determinar las propiedades antimicrobianas de extractos de hojas de *Ricinus communis* L. frente a cepas Gram negativas y Gram positivas de referencia.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Las plantas como fuente de metabolitos secundarios de utilidad en la industria médico farmacéutica y en la agricultura

La naturaleza representa desde la antigüedad una fuente inagotable de agentes medicinales y en la actualidad existe un listado de fármacos modernos que son derivados de los recursos naturales (Cragg y Newman, 2001).

La medicina verde, conocida también como medicina botánica o fitomedicina, se define como una rama de la ciencia en la cual las formulaciones a partir de plantas, son utilizadas para aliviar las enfermedades. Recientemente, el término fitoterapia fue introducido como un sinónimo más preciso de la medicina verde (Manoharan y Kaur, 2013).

Hasta principios del siglo XX la medicina verde ocupaba un lugar central en el sistema de salud, debido a que los antibióticos y los analgésicos no habían sido descubiertos. Con el avance de los sistemas alelopáticos, la medicina tradicional perdió gradualmente popularidad, como consecuencia de la acción terapéutica rápida que tienen los fármacos sintéticos (Singh, 2007).

Nuevamente existe una tendencia universal hacia la medicina verde, debido a que las plantas constituyen una fuente rica en agentes terapéuticos para la prevención de enfermedades y trastornos de salud (Sharma *et al.*, 2008). A causa del creciente interés en la medicina tradicional, la búsqueda de plantas con propiedades medicinales es un fenómeno a nivel internacional. Actualmente, muchas de las potencias desarrolladas del mundo, adoptaron la práctica de la medicina verde como parte de su cultura integral.

Históricamente, todas las preparaciones médicas son derivados de plantas, ya sea en una forma simple o a partir de técnicas de refinamiento a través de extractos crudos, mezclas, etc. Durante el desarrollo temprano de la medicina moderna, los compuestos con actividad biológica obtenidos de las plantas superiores, tuvieron un papel fundamental al proveer medicamentos para combatir el dolor y las enfermedades.

El creciente interés por las plantas medicinales se sustenta en diversos factores entre los cuales se pueden citar la efectividad de las plantas medicinales y su aceptación en las poblaciones, representan una base material para la elaboración de compuestos químicos semi-sintéticos más complejos, se pueden estudiar marcadores taxonómicos para el descubrimiento de nuevas sustancias, existe un incremento en la producción, el consumo y el comercio internacional de las plantas medicinales y los compuestos fitoquímicos, las plantas constituyen un recurso renovable, el costo elevado y los efectos adversos de la mayoría de los fármacos y además, con frecuencia los microorganismos patógenos desarrollan resistencia frente a los antibióticos convencionales (Kong *et al.* 2003; WHO, 2005).

2.1.1. Desarrollo de la medicina moderna con el uso de las plantas superiores

Los productos naturales tienen una función importante en las investigaciones y en el desarrollo de los fármacos; sin embargo, no fue hasta el siglo XIX que el hombre comenzó a aislar los principios bioactivos de las plantas medicinales. Anterior a la Segunda Guerra Mundial, fueron aislados un grupo de productos naturales de plantas superiores que se convirtieron en agentes clínicos y un número de éstos todavía son utilizados en la medicina (Kong *et al.*, 2003) (Tabla 1).

Los productos naturales representan la mayor fuente de fármacos durante siglos y aproximadamente la mitad de los fármacos que se usan en la actualidad (quinina, teofilina, penicilina G, morfina, digoxina, ciclosporina, vitamina A, etc.) son derivados de productos naturales (Barisi y Omodele, 2014).

La determinación de las actividades biológicas de plantas que se utilizan tradicionalmente como medicinales, constituyen una ayuda a las comunidades rurales. En la actualidad, se realizan numerosos estudios con el objetivo de aislar compuestos bioactivos mediante bioensayos de fraccionamiento en especies vegetales, que muestran una elevada actividad biológica durante la evaluación fitoquímica. Con la disponibilidad de la información primaria, se pueden realizar

posteriores estudios como la estandarización de los extractos, la identificación y el aislamiento de los principios bioactivos, así como estudios farmacológicos con el compuesto purificado (Sharma *et al.*, 2008).

Tabla 1. Algunos ejemplos de especies vegetales de las cuales se han identificado el principio activo y tienen una aplicación terapéutica.

Nombre de la planta	Fármaco	Aplicación clínica
<i>Rauwolfia serpentina</i>	Serpentina	Hipertensión y disminución de la presión arterial
<i>Catharanthus roseus</i>	Vinblastina	Coriocarcinoma, leucemia en niños, cáncer testicular y de cuello.
<i>Phodophyllum emodi</i>	Phophyllotoxina	Linfomas
<i>Papaver somniferum</i>	Codeína, morfina	Dolor de cabeza, artritis e inducción del sueño.
<i>Ephedra sínica</i>	Efedrina	Trastornos respiratorios.
<i>Cinchona</i> spp.	Quinina	Alivia la fiebre
<i>Cephaelis</i> spp.	Emetina	Inducción del vómito y cura de disentería
<i>Digitalis leaves</i>	Digoxin	Terapias coronarias

2.2. Principales grupos de metabolitos secundarios

Los metabolitos secundarios constituyen una serie extensa de compuestos orgánicos que producen las plantas y que no participan de forma directa en el desarrollo y crecimiento de las mismas. Estos metabolitos tienen diversas funciones en los vegetales, entre las que se destacan su uso como defensa contra el ataque de determinadas plagas y la atracción de agentes polinizadores (Tevini *et al.*, 1991).

2.2.1. Los compuestos fenólicos o polifenoles. Características químicas y funciones en las plantas

Las moléculas fenólicas se caracterizan por poseer uno o más anillos bencénicos y por lo menos un sustituyente hidroxilo. Tienen una elevada capacidad de reacción y pueden existir combinadas con un ácido orgánico (ácidos fenólicos) o un azúcar (flavonoles y antocianinas), o con ellas mismas formando un polímero. Fueron descritas 8 000 moléculas de este tipo diferentes, las cuales son solubles en agua o en solventes orgánicos (Chigodi *et al.*, 2013).

Los polifenoles tienen diversas funciones y modos de acción en las plantas y son inducidos generalmente por acción oxidativa. En los vegetales estos compuestos fenólicos tienen funciones de reconocimiento por los insectos polinizadores, de protección contra la luz ultravioleta, permiten enfrentar la agresión de herbívoros, insectos, hongos, bacterias, virus y, además, reducen la competencia entre plantas, lo cual se conoce como alelopatía (Martínez-Valverde *et al.*, 2000; Vivianco *et al.*, 2005).

2.2.1.1. Rutas biosintéticas de los compuestos fenólicos

Los polifenoles son sintetizados por dos rutas metabólicas: la del ácido shiquímico y la ruta del ácido malónico. La vía shiquímica es empleada por las plantas superiores para producir la mayoría de los polifenoles. Uno de los productos de esta vía es la fenilalanina, un aminoácido esencial sintetizado en el metabolismo primario de las plantas. Este aminoácido entra al metabolismo secundario cuando la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL, por sus siglas en inglés) cataliza la eliminación del amonio, convirtiendo la fenilalanina en ácido cinámico (Taiz y Zeiger, 2006).

2.2.1.2. Clasificación de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos pueden derivar en otras clases de metabolitos de gran importancia para las plantas y para el hombre. En la Tabla 2 se muestra la clasificación de los polifenoles atendiendo a su vía biosintética (Khursheed *et al.*, 2012).

Tabla 2. Clasificación de los polifenoles según su vía biosintética.

Ruta biosintética	Compuestos fenólicos derivados	Ejemplos
Ruta del ácido shiquímico	Fenoles sencillos	Presentes en plantas de las familias Ericaceae y Rosaceae (Hidroquinona)
	Ácidos fenólicos	Ácido benzoico Ácido cinámico (ácidos cafeíco, ferúlico, p-cumárico y clorogénico)
	Cumarinas	Sencillas (esculetol, escopoletol) Complejas (visnadina, piranocumarina)
	Lignanós	Presentes en briofitas, helechos y semillas de plantas superiores (enterolactona, enterodiol)
	Taninos	Hidrolizables (taninos gálicos y elágicos) Condensados o proantocianidinas
Ruta de los poliacetatos	Quinonas	Distribuidas en microorganismos, insectos y plantas (benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas).
Rutas del ácido shiquímico y del ácido malónico	Flavonoides	Antocianinas Flavanoles Flavanonas Flavonoles Flavonas Isoflavonas

Martínez (2005) y Taiz y Zeiger (2006).

2.2.1.3. Los flavonoides. Características y funciones

Los flavonoides son el grupo de polifenoles de mayor importancia debido a la cantidad en que se presentan en las plantas y dentro de estos, los flavonoles son los de mayor abundancia. Las formas representativas son la catequina, la mirecitina y el kampferol. En frutos y vegetales se presentan en forma glucosilada, es decir, unidos a una molécula de azúcar que generalmente es la glucosa o la ramnosa, aunque también se pueden encontrar otras como la galactosa, la arabinosa y la xilosa. Los flavonoides son acumulados en tejidos externos o más expuestos de las plantas, ya que su biosíntesis es estimulada por la luz (Manach *et al.*, 2004).

La estructura química de un flavonoide consiste en un esqueleto carbonado de 15 átomos de carbonos ordenados en dos anillos aromáticos que están unidos a través de un anillo heterocíclico (Figura 1). Esta estructura puede originarse por la vía del ácido shiquímico o la del ácido malónico. Mientras que los grupos hidroxilos y los azúcares aumentan la solubilidad de los flavonoides en agua, otros sustituyentes como grupos metilésteres hacen que estos compuestos tengan un carácter lipofílico (Taiz y Zeiger, 2006).

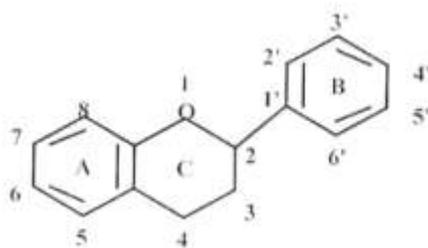


Figura 1. Estructura básica de los flavonoides. Fuente: Medina (2016).

Los flavonoides se dividen en seis subgrupos en dependencia de las variaciones de la estructura básica, como pueden ser hidroxilaciones, metoxilaciones, acilaciones o glucosilaciones. De esta manera se distinguen las antocianinas, los flavonoles, las flavanonas, las flavonas y las isoflavonas (Han *et al.*, 2007).

Las funciones que tienen estos compuestos en las plantas son diversas, como por ejemplo constituyen señales visuales para los insectos polinizadores debido

a la acumulación de estos pigmentos en la epidermis de las flores y la diversidad de colores que originan como azul, púrpura, rosado y rojo, el papel protector contra las radiaciones ultravioletas, participan en las interacciones simbióticas entre las plantas y los microorganismos e intervienen en la interacción planta-patógeno, ya que en la naturaleza las plantas se encuentran expuestas constantemente a patógenos potenciales como bacterias y hongos. En la mayoría de las plantas, la resistencia ante patógenos se relaciona con respuestas hipersensitivas como muerte celular alrededor del sitio de infección, lo cual implica el reforzamiento de las paredes celulares, la acumulación de lignina, la inducción de la lisis por enzimas y la síntesis de fitoalexinas (Tevini *et al.*, 1991; Koes *et al.*, 1994).

2.2.1.4. Importancia de los compuestos fenólicos para el hombre

Numerosos compuestos fenólicos como los fenoles sencillos, los ácidos fenólicos y los flavonoides se les atribuyen diversas actividades farmacológicas y médicas, relacionadas con la prevención y el tratamiento de ciertas patologías. Entre las principales propiedades se encuentran las actividades anticancerígenas, las antiinflamatorias, las estimuladoras de la respuesta inmune, las antialérgicas, las antivirales y en general, todas las enfermedades asociadas con el estrés oxidativo (Han *et al.*, 2007).

El efecto biológico más importante que tienen los compuestos fenólicos para la salud humana es la capacidad antioxidante que poseen, ya que numerosas patologías están relacionadas con el aumento de las especies reactivas del oxígeno (ERO) y otros radicales libres. Estas sustancias constituyen átomos o moléculas que presentan uno o más electrones desapareados, lo cual le confiere la reactividad frente a otros compuestos. Entre las principales ERO se encuentran el anión superóxido (O_2^-), el anión hidroxilo ($OH\cdot$) y el nitrilo ($NO\cdot$). Otros radicales libres importantes son los alquilos y los peroxilos (Pastene, 2009).

Las ERO son originadas normalmente en procesos celulares como la respiración celular y tienen un papel importante en la señalización celular. Sin embargo,

cuando estas especies se producen en concentraciones elevadas sobreviene el estado de estrés oxidativo, en el cual se origina un desbalance entre las ERO y los mecanismos de defensa antioxidantes, que conlleva a trastornos severos en el metabolismo celular y pueden ocurrir problemas como procesos inflamatorios, isquemia, daños hepáticos y otras enfermedades neurodegenerativas (Nathan y Ding, 2010).

El daño que provocan las ERO está relacionado con la oxidación de diferentes macromoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos que tienen funciones esenciales en las células. Así mismo, provocan la destrucción de orgánulos celulares, específicamente debido a la oxidación de los lípidos de membrana que conforman los distintos compartimentos celulares y que provoca cambios en la solubilidad de las mismas. Este fenómeno se conoce como peroxidación lipídica y está bien documentado por numerosos autores (Venereo, 2002).

Los polifenoles, en general, son capaces de eliminar los radicales libres ya que pueden donar electrones, y formar un radical fenoxilo estable. Diversos trabajos demostraron la capacidad antioxidante de los mismos (Reddy *et al.*, 2008).

Además de las potencialidades de los compuestos fenólicos como agentes antioxidantes, se describen otros usos potenciales en la medicina, como por ejemplo la capacidad antitumoral que presentan los flavonoides. Estudios realizados por Caltagirone *et al.* (2000) y Gupta *et al.* (2001) demostraron que flavonoides como la quercitina y la apigenina, tienen un potencial para inhibir el desarrollo de tumores. Estudios similares refieren que otros flavonoides como la epigallocatequina galato, la luteolina, la apigenina y la genisteina, pueden disminuir el desarrollo de la angiogénesis (desarrollo de nuevos vasos sanguíneos) en ensayos *in vitro* y *ex vitro* (Tosetti *et al.*, 2002).

Los flavonoides también fueron utilizados en la prevención de enfermedades coronarias. La producción endotelial de óxido nítrico inhibe la adhesión y agregación de plaquetas. El aglutinamiento de plaquetas es uno de los primeros eventos que ocurren en la formación de coágulos y que pueden ocluir a las arterias cerebral y coronaria, lo que resulta en un infarto o un derrame cerebral. La inhibición de la agregación de plaquetas es una importante estrategia en la

prevención de enfermedades cardiovasculares (Visioli *et al.*, 2000). Los resultados de pruebas clínicas controladas sugieren que la ingesta frecuente de alimentos y bebidas ricas en flavonoides puede mejorar la función vascular endotelial y disminuir la agregación plaquetaria (Polagruto *et al.*, 2003).

La capacidad antiinflamatoria de los compuestos flavonoides también se sugirió por diferentes autores y favorece procesos como la arteriosclerosis. Esta enfermedad es producida por la acumulación de una placa de ateroma, producida por un exceso de partículas de lípidos de baja densidad en las paredes de los vasos sanguíneos. Esto provoca una respuesta inflamatoria e impide la oxigenación y el transporte de nutrientes hacia los tejidos, lo que constituye la causa principal de los infartos, así como problemas cerebrales (Blake y Ridker, 2003). En el proceso inflamatorio la enzima ciclooxigenasa-2 cataliza la síntesis de prostaglandinas y tienen una función importante en la respuesta inflamatoria.

Estudios realizados por O'Leary *et al.* (2004) demuestran que los flavonoides quercetina, quercetina 3'-sulfato, entre otras presentes en diferentes especies, inhiben la actividad ciclooxigenasa-2. Por otra parte, Cuevas-Rodríguez *et al.* (2010) encontraron que extractos de frutos de zarzamoras silvestres de México, tienen una acción antiinflamatoria mediante la inhibición del óxido nítrico, el cual es un producto que desencadena reacciones proinflamatorias.

Los agentes terapéuticos potenciales para el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas son investigados constantemente en países desarrollados, los cuales muestran un gran interés en el uso de la medicina complementaria y alternativa, debido al aumento de la resistencia de los microorganismos a los antibióticos convencionales (Chigodi *et al.*, 2013).

2.2.1.5. Las saponinas. Características y usos potenciales

Las saponinas son metabolitos secundarios de alto peso molecular. Se encuentran fundamentalmente en forma de glucósidos, los cuales consisten en un residuo de azúcar unido a una estructura esteroidea o triterpénica (Figura 2).

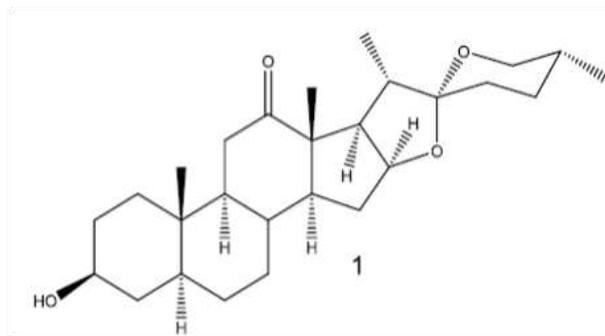


Figura 2. Estructura química de la hecogenina (saponina esteroidea). Fuente: Medina (2016).

Estos metabolitos son ampliamente utilizados en la industria farmacéutica debido a sus propiedades antiinflamatoria, antihipertensiva y anticancerígena. Los extractos de saponinas fueron utilizados también para mejorar la eficiencia alimenticia en ganados y cerdos (Romero-González *et al.*, 2006).

Las saponinas esteroidales y triterpénicas poseen propiedades surfactantes; por ello, estos compuestos se consideran agentes fitoremediadores para la eliminación de metales pesados en lugares contaminados. Varios trabajos refieren la capacidad de estos compuestos como agentes quelantes naturales de metales como el cromo, el cadmio, el cobre, el plomo y el zinc (González-Valdez *et al.*, 2013).

Entre las saponinas esteroidales caracterizadas son particularmente importantes la diosgenina, la sarsasapogenina y la hecogenina (Santos y Branco, 2014). En la década del 40 del siglo pasado, las saponinas esteroidales alcanzaron gran importancia económica debido a su posible transformación, en derivados farmacéuticos tales como los corticosteroides (prednisona, dexametasona, betametasona, triamcinolona, entre otros), hormonas sexuales y esteroides diuréticos (Fernández-Herrera *et al.*, 2009).

Numerosos investigadores demostraron que las saponinas como la hecogenina tienen varias aplicaciones; por ejemplo, tienen actividad antiproliferativa e inductora de la apoptosis en muchas líneas celulares, se emplean en la síntesis de derivados de glucosamina con actividad antiproliferativa y selectiva a diferentes células cancerígenas cérvico-uterinas

(Fernández-Herrera *et al.*, 2012); para la obtención de lactonas dinorcolánicas, las cuales son útiles como materiales de partida para la síntesis de esteroides activos (Ruíz-Pérez *et al.*, 2012) y en la obtención de nuevos análogos de brasinoesteroides (Gómez-Calvario *et al.*, 2013).

2.3. Familia Euphorbiaceae

Las especies de la familia *Euphorbiaceae* son propias de las sabanas y semidesiertos africanos y se caracterizan por presentar un tallo suculento. Morfológicamente se asemejan a numerosas cactáceas con hojas reducidas a un par de estípulas transformadas en espinas, aunque estas últimas no producen látex (Solera *et al.*, 2014).

Las euforbiáceas presentan caracteres diversos con relación a los órganos reproductores (flores e inflorescencia). Presentan un perianto doble como en la especie tropical oleífera *Jatropha curcas* L., así como en otras especies del género *Croton*. Las flores masculinas poseen un número elevado de estambres o solo uno, y las femeninas tienen el ovario bipartido o tripartido, con tres estaminodios (Botta *et al.*, 1990).

2.3.1. La higuera (*Ricinus communis* L.)

2.3.1.1. Clasificación taxonómica

La clasificación de *Ricinus communis* L. es la siguiente (Strasburger *et al.*, 1971):

Reino: Plantae

División: Spermatophyta

Subdivisión: Magnoliophytina

Clase: Magnoliatae

Orden: Euphorbiales

Familia: Euphorbiaceae

Género: *Ricinus*

Especie: *Ricinus communis* L.

2.3.1.2. Características y usos etnobotánicos

La higuiereta constituye un arbusto perenne diclino monoico muy ramificado que alcanza entre dos y cuatro metros de altura, de raíz superficial y tallo erecto, muy ramificado, cilíndrico, hueco, color rojo-vinoso, recubierto por una tenue capa de cera (González, 2008) (Figura 3).



Figura 3. Planta de *Ricinus communis* L. Fuente: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/euphorbiaceae/ricinus-communis/fichas/pagina1.htm>

El sistema radical es pivotante y presenta raíces ramificadas y superficiales, la raíz puede alcanzar profundidades hasta de seis metros, en plantas de ciclo perenne. En plantas anuales, la raíz es fibrosa y su crecimiento es limitado por exceso de humedad o mal drenaje, en suelos arcillosos o con problemas de compactación por maquinaria, animales, entre otros (Rico *et al.*, 2011).

El tallo es erecto, circular y parcialmente hueco; ramificado y varía en longitud. Puede tener diferentes colores como verde, rojo, o morado y con la presencia o ausencia de cera sobre este órgano. El tallo está bien definido por un número de nudos, a partir de los cuales emerge una hoja. Los entrenudos tienden a ser cortos en la base e incrementar en longitud a una mayor altura sobre la planta.

El tallo es suculento cuando joven y a medida que madura se vuelve leñoso (Cabrales *et al.*, 2014).

Las hojas son grandes, alternas, glabras, pecioladas, palmilobadas y palminervadas, con lóbulos aserrados y pigmentación rosada. En la base del pecíolo aparecen glándulas nectíferas, las que se hallan también en la parte inferior de la hoja en su inserción con el pecíolo (Botta *et al.*, 1990). (Figura 4).



Figura 4. Hojas de *Ricinus communis* L. Fuente: http://www.iewf.org/weedid/Ricinus_communis.htm

Las flores están reunidas en inflorescencias terminales, con las flores masculinas en la parte inferior y las femeninas en la superior. Las flores primeras están compuestas por cinco sépalos y numerosos estambres ramificados de color amarillo claro casi blanco, sobre todo en su extremidad, lo cual le confiere un aspecto espumoso. Las flores femeninas constan de un cáliz caduco que circunda completamente al ovario, es trilobular, con el estilo corto que termina en tres estilos bífidos (Mongiello, 2015). (Figura 5).

El fruto es una cápsula trilobular que contiene una semilla por lóculo, exteriormente está recubierto por espinas no punzantes y tiene tendencia a la dehiscencia. La semilla es oval, de tamaño variable entre cinco y 20 mm según la variedad. El tegumento es coriáceo, liso, lustroso, marmoreado y tóxico por la presencia de ricina y ricinina (Herbotecnia, 2004) (Figura 5).

La semilla es oval, rara vez esférica o alargada, de 0,6 a 1,5 cm de largo y entre 0,4 y 1,0 cm de ancho. Este órgano está cubierto por un tegumento (testa) duro y quebradizo, por debajo del cual se encuentra una capa fina y blanca que envuelve el albumen y rico en aceite. Varía en color, forma, tamaño, proporciones de la testa y la presencia o ausencia de carúncula (Córdoba, 2012). (Figura 5).



Figura 5. Inflorescencia (izquierda), frutos (centro) y semillas (derecha) de *Ricinus communis* L. Fuente: <http://www.levypreserve.org/Plant-Listings/Ricinus-communis>.

2.3.1.3. Usos etnobotánicos de *Ricinus communis* L.

Las diferentes partes de la planta como raíces, tallos, hojas, flores y frutos se utilizan por comunidades locales en el tratamiento de varias enfermedades (Jena y Gupta, 2012).

Los extractos de órganos mostraron varios efectos como analgésico, diurético, antidiarreico, antiasmático, antihelmíntico, antimicrobiano, hemolítico, entre otras actividades medicinales beneficiosas (Jeyaseelan y Jashothan, 2012; Khursheed *et al.*, 2012; Naz y Bano, 2012; Rana *et al.*, 2012; Barisi y Omodele, 2014). Los extractos de hojas, de raíces y de las semillas oleaginosas se usan en la medicina tradicional como laxante, así como en el tratamiento de dolores de cabeza, de espalda, de reumatismo, abscesos, hipoglicemia, procesos inflamatorios y trastornos del hígado (Kensa y Syhed, 2011).

Esta planta cumple las altas expectativas de la industria de los biocombustibles, ya que sus semillas presentan una alta concentración de aceites. Entre sus usos industriales, los aceites de las semillas son aprovechados en la preparación de lubricantes, pinturas, aislantes eléctricos, líquidos para frenos, cosméticos, plásticos, barnices, tintas, ceras, nylon, en la producción de fibra óptica, productos farmacéuticos y perfumes (Ramírez, 2017).

Asimismo, los residuos del proceso de extracción de aceites pueden introducirse en otros sistemas de producción, por ejemplo, en la industria agrícola como fertilizantes de suelos o como alimento para animales, ya que presentan un contenido alto de nitrógeno (Botta *et al.*, 1990).

2.3.1.4. Estudios fitoquímicos de *Ricinus communis* L.

Ricinus communis L. posee diversos metabolitos secundarios con principios activos de amplia utilidad en la industria médica y farmacéutica. Barisi y Omodele (2014) refirieron la presencia de compuestos fenólicos en extractos de raíces y saponinas en extractos acuosos de raíces, hojas y semillas.

En extractos metanólicos de semillas de higuera se observó la presencia de antocianinas, vitaminas A y C, ricina, esteroides, taninos, saponinas, glucósidos y fenoles (Rahmati *et al.*, 2015).

Estudios similares refirieron la presencia abundante de fenoles, terpenoides y glucósidos en extractos hidroalcohólicos de corteza de *R. communis* L., cantidades moderadas de taninos, saponinas, esteroides y bajas de flavonoides y alcaloides. En extractos hidroalcohólicos de hojas fueron detectados cantidades abundantes de flavonoides, moderadas de fenoles, terpenoides, alcaloides y bajas de glucósidos. En las flores también se observaron contenidos moderados de fenoles, taninos, flavonoides y glucósidos y bajos niveles de saponinas, terpenoides, alcaloides, esteroides, ácidos grasos (Swaati *et al.*, 2014).

2.3.1.5. Actividad antimicrobiana de *Ricinus communis* L.

Diversos trabajos refirieron un efecto antimicrobiano de diferentes extractos de *Ricinus communis* L. contra diferentes patógenos. Barisi y Omodele (2014) observaron una actividad antimicrobiana de extractos acuosos de hojas contra *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella halize*, la cual se asoció con la presencia de saponinas. Investigaciones similares determinaron un efecto inhibitorio contra *S. aureus* y *Escherichia coli* de extractos de hojas (Bereket *et al.*, 2014).

Estudios con semillas de higuera revelaron un efecto antimicrobiano contra más de 20 cepas diferentes de bacterias (Momoh *et al.*, 2012). Los extractos metanólicos de semillas inhibieron el crecimiento de las bacterias *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Salmonella typhi*, así como de la levadura *Candida albicans* (Rahmati *et al.*, 2015).

De manera similar, Beenish *et al.* (2015) evaluaron los extractos de semillas con el empleo de solventes de diferentes polaridades y refirieron un efecto antimicrobiano contra *Rhodococcus* spp. y *Bacillus subtilis* con extractos metanólico y clorofórmico; mientras que contra *Escherichia coli* solo el extracto con cloroformo mostró un efecto moderado. Los solventes n-hexano y acetona no fueron efectivos en la extracción de compuestos bioactivos antimicrobianos ya que no se observó actividad inhibitoria contra estas bacterias.

2.4. Enfermedades bacterianas producidas en animales de interés zootécnico

2.4.1. Enfermedades producidas por *Escherichia coli*

Escherichia coli es uno de los principales hospederos del tracto gastrointestinal de la mayoría de las especies de mamíferos, incluido los humanos y las aves. Esta bacteria pertenece al grupo de las *Enterobacteriaceas* y posee entre las características fundamentales la de ser morfológicamente un bacilo Gram negativo, no esporulado, mótil y mesófilo que produce indol a partir del triptófano, además de ser capaz de fermentar la glucosa y la lactosa con producción de gas. Los diversos serotipos que forman parte de esta especie constituyen una causa importante de enfermedades intestinales y

sistémicas en todo el mundo. Estas cepas potencialmente dañinas se clasifican en función de los síntomas clínicos que generan y de los factores de patogenicidad que poseen como: *enterotoxigénicas*, *enteropatógenas*, *enteroagregativas*, *enterohemorrágicas* y *enteroinvasivas* (Wong *et al.*, 1996).

2.4.1.1. Diarreas en terneros

E. coli F5 (K99) es causante de diarreas en terneros y existen al menos dos tipos distintos de enfermedades diarreicas asociadas con diferentes cepas del microorganismo. Un tipo tiene dos factores de virulencia asociados con la producción de diarrea y los antígenos fimbriales como la K99 o el F41 les permiten colonizar las vellosidades del intestino delgado (VuKhac *et al.*, 2006).

Estos enteropatógenos, también conocidos como *E. coli* de adherencia y destrucción, pueden producir verotoxinas que provocan una diarrea hemorrágica más grave. La infección puede residir en el colon, el ciego y la porción distal del intestino delgado y causar infecciones graves con edemas, erosiones mucosas y úlceras (Nagy y Fekete, 1999).

Las vías de transmisión incluyen aerosoles respiratorios, aerosoles fecales y la vía fecal-oral. El ganado portador sano puede excretar periódicamente el microorganismo a través de las heces y la excreción puede aumentar bajo estrés durante el parto. Estas condiciones pueden conducir a la infección de la ubre y el perineo de la madre, además de la contaminación de los entornos de parto. Alternativamente, la manifestación de diversas diarreas en los terneros puede contaminar gravemente una zona de cría (Wong *et al.*, 1996).

Entre los síntomas de la enfermedad están la aparición repentina de diarrea abundante típicamente en terneros menores de 5 días de edad, lo cual hace que se depriman y se recuesten en el suelo. Estos animales pueden experimentar una pérdida de peso considerable (> 12 % del peso corporal), así como un posible choque hipovolémico y la muerte en menos de 24 horas (Blanco, 2006).

2.4.1.2. Colibacilosis en cerdos

En Cuba, la colibacilosis es una de las primeras causas de mortalidad infecciosa en cerdos neonatos y según datos del Instituto de Medicina Veterinaria, con una pérdida anual de hasta un 10 %, lo cual afecta la economía nacional en más de un millón de pesos (MN). Muchas de estas pérdidas son provocadas por la debilidad y el incremento de su predisposición a otras enfermedades del animal que sobrevive, además del costo en fármacos y el personal relacionado con el manejo del animal (Wong *et al.*, 1996).

E. coli es la mayor causa de infección entérica en cerdos neonatos en Cuba (Castro *et al.*, 2002). Las colibacilosis causadas por *E. coli* enterotoxigénicos (ECET) son muy frecuentes en los animales domésticos, lo que afecta fundamentalmente a animales de pocos días de edad y recién destetados, y producen pérdidas económicas importantes en explotaciones porcinas de todo el mundo (Bereket *et al.*, 2014). La diarrea postdestete en cerdos con frecuencia es el principal problema infeccioso de las granjas a gran escala, y es la responsable de pérdidas significativas a nivel mundial (VuKhac *et al.*, 2006).

2.4.1.3. Diarrea postdestete por *E. coli*

E. coli enterotoxigénico posee una combinación de factores de adhesión y enterotoxinas que son necesarias para producir el cuadro intestinal completo. Los factores de adhesión de ECET son proteínas especializadas de las fimbrias o pilus, que se adhieren con firmeza a los receptores glicoproteicos de los enterocitos. Estos receptores sólo están presentes durante un tiempo limitado en los cerdos hasta las seis semanas de edad. Esta fijación permite a ETEC resistir los movimientos intestinales normales y colonizar así el intestino (Castro *et al.*, 2002).

Los signos clínicos se producen casi siempre alrededor de las dos semanas tras el destete, con un brote de diarrea amarillenta-blanquecina, cremosa-acuosa, diarrea en proyectil. Esta diarrea acuosa tiene poco alimento sólido evidente y los cerdos muestran en seguida deshidratación y pérdida de condición corporal (McOrisT, 2014).

2.4.1.4. Impacto económico de la colibacilosis

La colibacilosis porcina provoca pérdidas económicas por las tasas de mortalidad y morbilidad con que se presenta. Los animales en estos casos poseen menor ganancia de peso y tienen un alto riesgo de contraer otras enfermedades especialmente respiratorias. Para controlar y lograr la erradicación de esta enfermedad, se deben desarrollar estrategias para la producción de nuevos fármacos altamente confiables para los tratamientos preventivos y curativos, con el objetivo de eliminar las prácticas deficientes del manejo que inciden en la presentación de esta enfermedad (Francis, 1999).

2.4.2. Enfermedades producidas por *Staphylococcus aureus*

El *Staphylococcus aureus* pertenece a la familia *Micrococcaceae* y es también conocido como estafilococo dorado. Es una bacteria Gram positiva, que es capaz de producir coagulasa y catalasa. Está ampliamente distribuida por todo el mundo y puede producir una amplia gama de enfermedades que van desde infecciones cutáneas y de las mucosas a otras como foliculitis, forunculosis o conjuntivitis. En algunos casos pueden llegar a producir enfermedades de riesgo vital como celulitis, abscesos profundos, osteomielitis, meningitis, sepsis, endocarditis o neumonía (Westh *et al.*, 2004).

Este microorganismo es responsable de más del 80% de las enfermedades supurativas que padecen los animales, fundamentalmente en la piel, e invaden cualquier parte del individuo donde puede causar infecciones severas, sobre todo si existe un debilitamiento general del huésped (Mejías, 2013).

Las infecciones con estafilococos en aves son relativamente poco frecuentes en relación con el conjunto de enfermedades infecciosas provocadas por otras bacterias y virus. Se sugirió que la susceptibilidad a la infección de esta bacteria está determinada por factores genéticos. La patogénesis de las infecciones se relaciona con la integridad de la piel y de las membranas mucosas. El ingreso de esta bacteria al organismo del ave se favorece por lesiones en ella, ya que los estafilococos son parte de la flora bacteriana de la piel y del medio ambiente. (Mejías, 2013).

Los sitios de la anatomía de las aves donde se reportan infecciones con más frecuencia son: articulaciones (artritis y sinovitis), huesos (osteomielitis), saco vitelino (onfalitis), sangre (septicemia), piel (dermatitis gangrenosa) y en las patas, específicamente en los cojinetes plantares (Mejías, 2013).

2.4.2.1. Mastitis bovina

La mastitis se define como una inflamación de la glándula mamaria y sus tejidos secretores, que se caracteriza por reducir la producción de leche y por provocar cambios químicos y físicos en su composición, incluso en su sabor, además de elevar su carga bacteriana normal (Gasque, 2015). Esta inflamación ocurre en respuesta a un daño local como lesiones en la ubre e irritaciones químicas. Además puede tener un origen traumático, tóxico o infeccioso y se asocia más comúnmente a infecciones causadas por microorganismos, especialmente bacterias (Philpot y Nickerson, 2000).

En la actualidad, se han reportado más de 100 microorganismos como causantes de infecciones intramamarias. Entre los agentes productores de esta enfermedad en bovinos están las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus uberis*, *Escherichia coli*, *Clostridium perfringens*, *Nocardia asteroides*, *Corynebacterium pyogenes*, *Pseudomonas sp.*, *Leptospira sp.*, *Serratia sp.*, *Klebsiella sp.*, *Fusobacterium sp.*; hongos como *Aspergillus fumigatus*, *Trichosporon sp.* y *Candida sp.*, además de levaduras como *Cryptococcus neoformans* (Gasque, 2015).

Entre los factores de riesgo que influyen en la presentación de esta enfermedad se encuentran el método de ordeño utilizado, el cumplimiento incorrecto de la rutina de ordeño, la ausencia del sellado del pezón al finalizar el ordeño, los períodos de lactancia avanzados, el lavado deficiente de la ubre, la contaminación del equipo de ordeño y la deficiente higiene del medio ambiente (Benone, 2011 y Gasque, 2015).

2.4.2.2. Pérdidas económicas producidas por la mastitis

La mastitis bovina es la enfermedad infecciosa de mayor importancia económica en la explotación lechera, produce una marcada disminución en la producción de

leche y en el valor biológico de este producto. Ejerce un efecto negativo sobre la industria láctea ya que disminuye el valor nutritivo de sus productos, especialmente la concentración de calcio y altera el sabor de la leche (Cariddi, 2013). El descarte prematuro de vacas, la penalización por altos recuentos de células somáticas en tanque, las erogaciones por labores extras asociadas a la enfermedad y los cambios composicionales de la leche, están comprendidos dentro de las pérdidas ocasionadas por esta patología (Geary *et al.*, 2012).

2.4.2.3. Tratamiento de la mastitis

El tratamiento que se emplea con mayor frecuencia para combatir la mastitis consiste en la antibioterapia, normalmente intramamaria. La elección del antibiótico, bajo prescripción veterinaria, depende de los resultados del aislamiento y antibiograma, de las características del antibiótico y de la acción bacteriostática y bactericida del mismo (Saran y Chafer, 2000).

En algunos países se recomienda el uso de drogas de amplio espectro antimicrobiano, como las cefalosporinas de tercera o cuarta generación para el tratamiento de todo tipo de mastitis (Pyorala, 2002). Sin embargo, el uso indiscriminado de los antibióticos puede provocar consecuencias negativas como la generación de cepas bacterianas resistentes, la modificación de algunas de las características organolépticas de la leche y al paso de sus residuos a los consumidores de los productos lácteos (Moraleda, 2005).

En los últimos años existe un aumento de las investigaciones para implementar nuevas alternativas terapéuticas que puedan disminuir la aplicación de antibióticos en la terapia de la mastitis. Las plantas medicinales son excelentes fuentes para la búsqueda de nuevos fármacos con actividad antimicrobiana. Recientemente se comprobó la actividad antimicrobiana del extracto hidroalcohólico de las hojas del jambolán *Syzygium cumini* y del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* (Griseb.) Epling, vulgarmente conocida como "peperinar" ante cepas productoras de mastitis (Cariddi y Montironi, 2013).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en los laboratorios pertenecientes al Centro de Estudios Biotecnológicos (CEBIO) de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Matanzas, Cuba. En la Figura 6 se muestran las diferentes etapas efectuadas a través del esquema general de trabajo.



Figura 6. Esquema general de trabajo con las diferentes etapas.

3.1. Selección, identificación y caracterización del material vegetal

Se seleccionaron ejemplares de *Ricinus communis* L. adultos presentes en el Jardín Botánico de Matanzas (JBM) para la realización de los experimentos. La identificación taxonómica de la especie se realizó por especialistas de esta entidad, a partir del análisis de los caracteres morfológicos *in situ* y con muestras

presentes en el herbario de dicha entidad. Además, se herborizó un ejemplar y se entregó al herbario “Hermanos León” del JBM. Para desarrollar el herbario se realizó la colecta, el presecado, el secado, el envenenamiento y el montaje de la muestra sobre una cartulina de 28 cm de ancho por 42 cm de largo y se colocó una etiqueta que contiene el número de entrada, la provincia, el nombre científico de la especie, la familia, el lugar y la fecha de colecta, los colectores y determinadores (Figura 7).

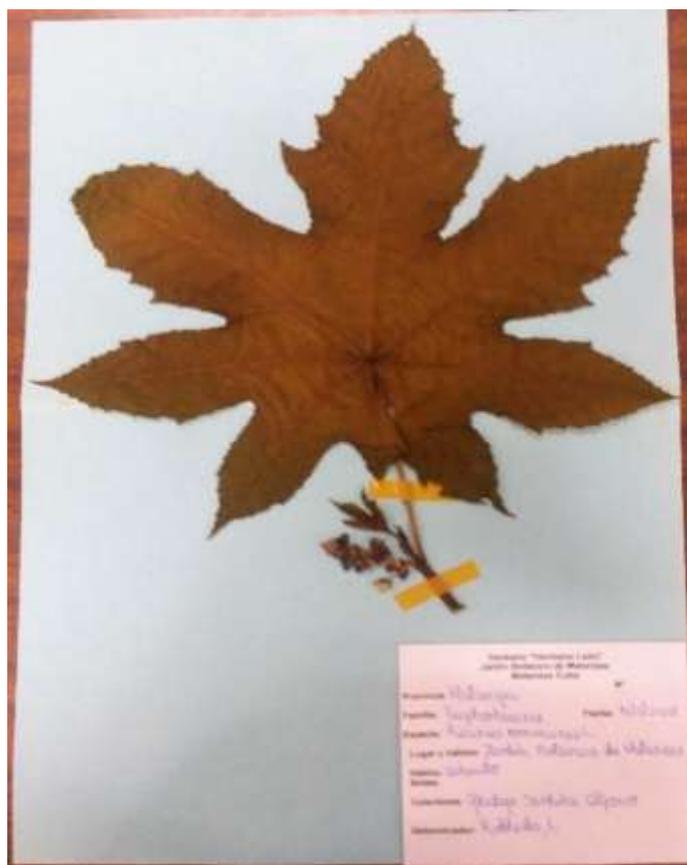


Figura 7. Herbario de *Ricinus communis* L. Fuente: Gladys Sardiña Alfonso.

La muestra para el estudio fitoquímico y microbiológico consistió en hojas de plantas adultas que no presentaron síntomas de enfermedades o ataque de plagas. La colecta se realizó entre 8:00 am y 9:00 am y las hojas se trasladaron hacia el CEBIO para la preparación de los extractos.

3.2. Preparación de los extractos

Las hojas colectadas fueron lavadas con agua destilada para eliminar el polvo y posteriormente se procedió al secado en una estufa (Boxun) a 45°C. Las hojas secas fueron trituradas en un molino eléctrico hasta pulverizar (Niranjan *et al.*, 2013).

Se mezclaron 5 g de polvo de las hojas secas con 50 mL de cada solvente (etanol 90% y agua) en erlenmeyers de 250 mL con tapones de algodón, y se colocaron en agitación sobre una zaranda orbital (HDL® APPARATTUS) a 160 rpm por 24 horas. Transcurrido este tiempo las muestras fueron filtradas con cinco capas de papel de filtro. Posteriormente, el filtrado se colectó y evaporó en una estufa a 40°C hasta obtener un volumen final de un cuarto del inicial (Parekh y Chanda, 2006). Los extractos se conservaron a 4°C para los ensayos fitoquímicos posteriores.

Para el ensayo de actividad antimicrobiana se disolvieron 100 g de polvo de hoja en 500 mL de etanol (90%) y se colocó en agitación (160 rpm) por 24 horas. Se filtró el sobrenadante y se colectó en un recipiente ámbar. El sólido se volvió a homogenizar en 250 mL de etanol al 90% y se colocó en iguales condiciones durante otras 24 horas. El sobrenadante se filtró con dos capas de papel de filtro y se adicionó al sobrenadante colectado previamente. El mismo se colocó y secó en una estufa a 40°C hasta obtener un sólido seco que fue almacenado para el ensayo de actividad antimicrobiana.

3.3. Análisis fitoquímico de los extractos

3.3.1. Análisis cualitativo de los metabolitos secundarios

Para la determinación de los metabolitos secundarios se utilizó la metodología descrita por Chigodi *et al.* (2013):

Prueba para flavonoides: se adicionó 1 mL de NaOH 0,1 mol.L⁻¹ a 100 mg de extracto y posteriormente se agregó igual volumen de HCL 0,1 mol.L⁻¹. La presencia de un color amarillo en la disolución indicó la presencia de flavonoides.

Prueba para terpenoides: se mezclaron 100 mg de extracto con 1 mL de cloroformo y a continuación se adicionaron 2 mL de H₂SO₄ concentrado. La coloración rojo-pardo en la interfase indicó la presencia de terpenoides.

Prueba para antocianinas: se mezclaron 100 mg de extracto con 3 mL de agua destilada y posteriormente se adicionó 1 mL de HCL 2 mol.L⁻¹ y disolución amoniacal 2 mol.L⁻¹ a 1 mL de la mezcla anterior. La coloración rosado-rojo que se torna azul-violeta indicó la presencia de antocianinas.

Prueba para taninos: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 2 mL de agua destilada y la mezcla se calienta en baño María. Posteriormente se filtró y al sobrenadante se adicionaron dos gotas de disolución de cloruro férrico al 1% en metanol (1:1). La presencia de taninos se identificó mediante la formación de un color verde oscuro en la disolución.

Prueba para antraquinonas: se mezclaron 200 mg de cada extracto con 3 mL de HCL al 10% y la mezcla se calentó a 100°C durante 3 minutos en baño María. Posteriormente la mezcla se filtró y el sobrenadante se dejó enfriar a temperatura ambiente. Seguidamente, se adicionaron igual volumen de CHCl₃ al filtrado y a continuación unas gotas de disolución de amonio al 10% y se volvió a calentar la mezcla. La formación de una coloración rosada indicó la presencia de antraquinonas.

Prueba para glucósido cardiotónico: se mezclaron 200 mg de cada extracto con 5 mL de agua destilada. La mezcla se agitó vigorosamente y luego se filtró. Se tomaron 3 mL del sobrenadante y se adicionaron 2 mL de ácido glacial acético que contiene una gota de disolución de cloruro férrico al 1%. A la mezcla se adicionó cuidadosamente 1 mL de H₂SO₄ concentrado por las paredes del tubo de ensayo. La presencia de desoxiazúcares característicos de los compuestos cardiotónicos, se observó por la formación de un anillo pardo en la interfase junto a un anillo púrpura por debajo.

Prueba para saponinas: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente y posteriormente la mezcla se calentó a

100°C. La formación de espuma o una mezcla cremosa con pequeñas burbujas muestra la presencia de saponinas.

Prueba para flobataninos: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y posteriormente se filtró. El sobrenadante se mezcló con una disolución de HCL al 2% y se calentó a 100°C. La presencia de flobataninos se determinó por la formación de un precipitado rojo.

Prueba para esteroides: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de CHCl_3 y luego se agitó la mezcla. Posteriormente se adicionaron 2 mL de H_2SO_4 concentrado cuidadosamente por los lados del tubo de ensayo. La formación de un color rojo en la capa superior y una coloración verde fluorescente en la capa de H_2SO_4 indicó la presencia de esteroides en el extracto.

Prueba para cumarinas: se mezclaron 100 mg de cada extracto con 3 mL de agua destilada. La mezcla se agitó y posteriormente se filtró. Se adicionó 1 mL de NaOH al 10% a un mililitro del filtrado. La formación de una coloración amarilla indicó la presencia de cumarinas en la muestra.

El contenido de los metabolitos se determinó de manera cualitativa a través del sistema no paramétrico de cruces:

Contenido: (+++ = abundante, ++ = moderado, + = bajo, - = ausencia).

3.3.2. Cuantificación de azúcares reductores

El contenido de azúcares reductores se determinó por el método del ácido dinitrosalisílico y se empleó la D-glucosa (Sigma) como azúcar patrón (Miller, 1959). La absorbancia se midió a una longitud de onda de 456 nm.

3.3.3. Contenido de proteínas solubles totales

El contenido proteico se determinó colorimétricamente mediante el método descrito por Lowry *et al.* (1951), con el uso de albúmina de suero bovino (BSA)

como patrón. Los valores de absorbancia se obtuvieron a 750 nm y las concentraciones (mg. mL^{-1}) se determinaron mediante la curva patrón.

3.3.4. Cuantificación de fenoles totales

La extracción de los fenoles solubles se realizó en 10 volúmenes de metanol. Las muestras fueron homogenizadas y centrifugadas a 10 000 rpm (Gurr *et al.*, 1992). El precipitado se resuspendió en $\text{NaOH } 2 \text{ mol.L}^{-1}$ para la extracción de los fenoles ligados a las paredes celulares, neutralizándose en igual volumen de $\text{HCl } 2 \text{ mol.L}^{-1}$ (Gurr *et al.*, 1992). Para determinar la concentración de fenoles se utilizó el ácido clorogénico ($0,05 \text{ mol.L}^{-1}$) como patrón y los valores de absorbancia fueron leídos a una longitud de onda de 725 nm. A partir de los valores obtenidos de concentración de fenoles solubles y ligados a la pared se calcularon las concentraciones de fenoles totales.

3.4. Ensayo de actividad antimicrobiana

La actividad antimicrobiana *in vitro* de los extractos se evaluó frente a la bacteria Gram positiva: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y las bacterias Gram negativas *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus* sp. y *Klebsiella pneumoniae*. El ensayo se realizó con el uso del método de difusión en pocillos (Pérez *et al.*, 1990).

Las cepas bacterianas fueron rejuvenecidas previamente sobre el medio Caldo Cerebro-Corazón a 37°C . Se inoculó el medio Caldo Mueller- Hinton con células del microorganismo y se incubó a 37°C hasta obtener una de turbidez equivalente al tubo 0.5 de la escala de Mc Farland con el uso de un hisopo estéril. Los pocillos fueron realizados con la ayuda de un orador estéril de 8 mm de diámetro y se les adicionaron $100 \mu\text{L}$ (200 mg.mL^{-1}) de cada extracto. Las placas fueron incubadas toda la noche a 37°C .

Para cada cepa bacteriana se emplearon como controles negativos los solventes utilizados para realizar los extractos y como control positivo los antibióticos Cefalexina $30 \mu\text{g}$ para la Gram positiva y Amikacina $30 \mu\text{g}$ para las Gram negativas. La actividad antimicrobiana se obtuvo a partir del diámetro de la zona

de inhibición del crecimiento bacteriano. Se realizaron tres réplicas por cada experimento (Parekh y Chanda, 2006).

3.5. Diseño experimental y análisis estadístico

La determinación cualitativa de los metabolitos secundarios se realizó por triplicado. Las lecturas de absorbancia para las cuantificaciones de azúcares reductores y fenoles también se realizaron por triplicado.

Los datos fueron procesados con el paquete estadístico Statgraphic plus 5.1 sobre Windows. Se determinó el ajuste a una Distribución Normal mediante la prueba de Bondad de Ajuste Kolmogorov-Smirnov y la Homogeneidad de Varianza mediante las Pruebas de Bartlett (Sigarroat, 1985). En los casos en que los datos cumplieron los requisitos exigidos se procesaron mediante ANOVA de clasificación simple y para la comparación de medias se utilizó la Prueba de Rangos Múltiples de Duncan. Para los datos que no cumplieron con estas premisas se realizó la Prueba de Kruskal-Wallis y la Prueba de Rangos Múltiples de Student-Newman-Kwels (SNK) para la comparación de medias entre tratamientos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización fitoquímica

Los extractos acuosos y etanólicos mostraron la presencia de contenidos notables de flavonoides y terpenos, mientras que no se detectaron antocianinas en ninguno de los extractos analizados (Tabla 3). En el caso de los flavonoides el etanol resultó ser un mejor solvente que el agua, lo cual puede estar asociado con la diferencia en polaridad de ambos solventes.

Tabla 3. Contenidos relativos de flavonoides, terpenos y antocianinas, en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L.

Metabolitos secundarios	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Flavonoides	++	+++
Terpenos	+++	+++
Antocianinas	-	-

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderados, + = bajo, - = ausencia

La presencia de los metabolitos secundarios analizados en la presente investigación, fueron referidos con anterioridad en extractos de *Ricinus communis* L. por diferentes autores (Kensa y Yasmin, 2011; Jena y Gupta, 2012; Vandita *et al.*, 2013; Alugah y Ibraheem, 2014; Salman *et al.*, 2017). De manera similar, Changmai *et al.* (2015) observaron la presencia de flavonoides y terpenos en hojas de esta especie, mientras que Swaati *et al.* (2014) refirieron la presencia abundante de flavonoides en extractos etanólicos de hojas de *R. communis* L. Por otra parte, estos resultados no coinciden con los obtenidos por Rao *et al.* (2013) quienes no evidenciaron la presencia de terpenos y flavonoides en extractos de higuera. Esto puede estar relacionado con diferentes factores como el genotipo, el ambiente, el momento de corte y las técnicas utilizadas para la detección de los metabolitos secundarios.

La presencia abundante de flavonoides infiere buenas propiedades antioxidantes de los extractos de *R. communis* L. (Jena y Gupta, 2012) y, por tanto, la potencialidad de los mismos para el aislamiento de estos compuestos y su utilización en el tratamiento de las numerosas enfermedades relacionadas con

el estrés oxidativo como las enfermedades neurodegenerativas (Parkinson, Alzheimer), los procesos inflamatorios, el cáncer, entre otros (Rahman, 2007).

En la Tabla 4 se muestran los resultados de tamizaje fitoquímico para los metabolitos: esteroides, saponinas y taninos. Estos últimos se observaron en cantidades abundantes tanto en los extractos etanólicos como en acuosos. Los esteroides fueron detectados también en ambos extractos, pero en bajos niveles, mientras que las saponinas solo fueron detectadas con el uso de etanol como solvente.

Tabla 4. Contenidos relativos de esteroides, saponinas y taninos en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L.

Metabolitos secundarios	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Esteroides	+	+
Saponinas	-	+
Taninos	+++	+++

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderados, + = bajo, - = ausencia

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Swaati *et al.* (2014), Changmai *et al.* (2015) y Kaur *et al.* (2016) quienes observaron la presencia de esteroides, saponinas y taninos en *R. communis* L. Por el contrario, Rao *et al.* (2013) no detectaron la presencia de taninos en esta especie, mientras que Swaati *et al.* (2014) y More *et al.* (2014) determinaron contenidos bajos de taninos y saponinas en sus extractos.

Sharma *et al.* (2013) encontraron la presencia moderada de esteroides, saponinas y taninos en el extracto etanólico de las hojas, resultado que no coincide con los obtenidos en este trabajo donde se observó una baja presencia para el caso de los esteroides y las saponinas.

La presencia de estos metabolitos secundarios (terpenoides, flavonoides, taninos, esteroides y saponinas) también fueron referidos en otros órganos de la planta higuera como la corteza, las flores (Swaati *et al.*, 2014) y las semillas (Aziz *et al.*, 2016).

La presencia de flavonoides y taninos en el extractos de hojas de *R. communis* L., sugiere propiedades antihemolíticas a esta especie, ya que las propiedades antioxidantes conferidas a estos metabolitos reducen los niveles de especies reactivas del oxígeno que atacan las membranas de los eritrocitos y provocan la ruptura de los mismos (Alugah y Ibraheem, 2014).

Los resultados correspondientes al estudio fitoquímico de los metabolitos secundarios cumarinas, glucósidos cardiotónicos, antraquinonas y flobataninos se muestran en la Tabla 5. Entre estos compuestos solo se detectaron cumarinas, las cuales se observaron en mayores proporciones en el extracto acuoso en comparación con el etanólico.

Tabla 5. Contenidos relativos de cumarinas, glucósidos cardiotónicos, antraquinonas y flobataninos en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L.

Metabolitos secundarios	Extracto acuoso	Extracto etanólico
Cumarinas	++	+
Glucósidos cardiotónicos	-	-
Antraquinonas	-	-
Flobataninos	-	-

Contenido: +++ = abundante, ++ = moderados, + = bajo, - = ausencia

Los resultados obtenidos son congruentes con datos referidos por otros autores como Changmai *et al.* (2015) y Kaur *et al.* (2016), los cuales no observaron la presencia de glucósidos cardiotónicos ni flobataninos en extractos de *R. communis* L.

Sin embargo, estos resultados no coinciden con los obtenidos por More *et al.* (2014) quienes detectaron contenidos bajos de glucósidos en extracto acuoso de *R. communis* L.

Kaur *et al.* (2016) prepararon extractos de *R. communis* L. acuosos y con diferentes solventes orgánicos y en todos los casos revelaron la presencia de antraquinonas, resultados que difieren a los obtenidos en el presente trabajo.

Las cumarinas y sus derivados bioactivos también son compuestos que presentan diversas propiedades farmacológicas y constituyen esqueletos carbonados de los cuales se pueden sintetizar nuevos fármacos. Estos metabolitos presentaron actividades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias, bacteriostáticas y anticoagulantes (Jain y Joshi, 2012; Zhao *et al.*, 2015).

Ribeiro *et al.* (2016) en sus investigaciones revelaron la presencia de concentraciones altas de cumarinas en los extractos etanólicos de *R. communis* L., lo cual está en concordancia con los resultados obtenidos en la presente investigación.

4.2. Contenido de metabolitos primarios

4.2.1. Carbohidratos solubles totales y azúcares reductores

La Figura 8 muestra el contenido de carbohidratos solubles totales en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. En la misma se observa una mayor concentración de carbohidratos totales ($12,77 \text{ mg. mL}^{-1}$) en el extracto etanólico en comparación con el contenido en el extracto acuoso ($8,94 \text{ mg. mL}^{-1}$).

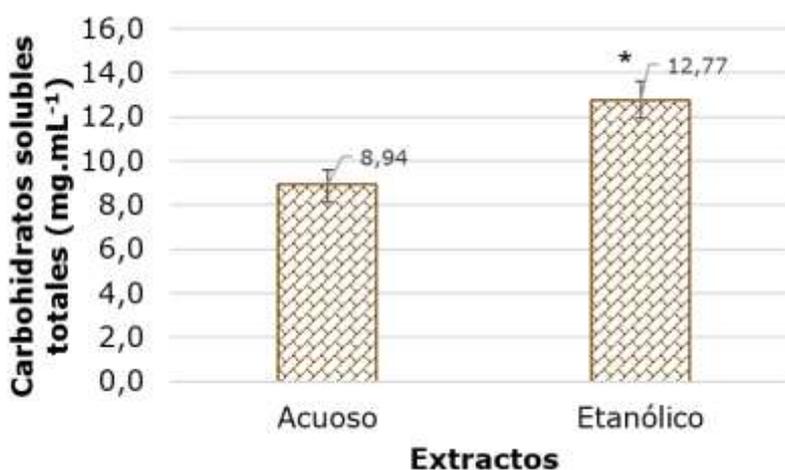


Figura 8. Contenido de carbohidratos solubles totales en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. *: indica diferencias significativas entre extractos según Prueba Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Changmai *et al.* (2015) los cuales comprobaron la presencia de carbohidratos solubles totales en extractos de *R. communis* L. Estos autores al utilizar metanol como solvente orgánico, obtuvieron un mayor porcentaje de carbohidratos con respecto a los observados en este trabajo con etanol. Por el contrario, los resultados obtenidos en el presente estudio no coinciden con los observados por Kaur *et al.* (2016), ya que estos autores no detectaron la presencia de carbohidratos solubles en extractos acuosos de *R. communis* L.

El contenido de azúcares reductores en extractos acuoso y etanólico de hojas de *Ricinus communis* L. se muestra en la Figura 9. Los mayores valores fueron observados con el solvente etanólico ($6,62 \text{ mg.mL}^{-1}$) en comparación con el acuoso ($4,48 \text{ mg.mL}^{-1}$).

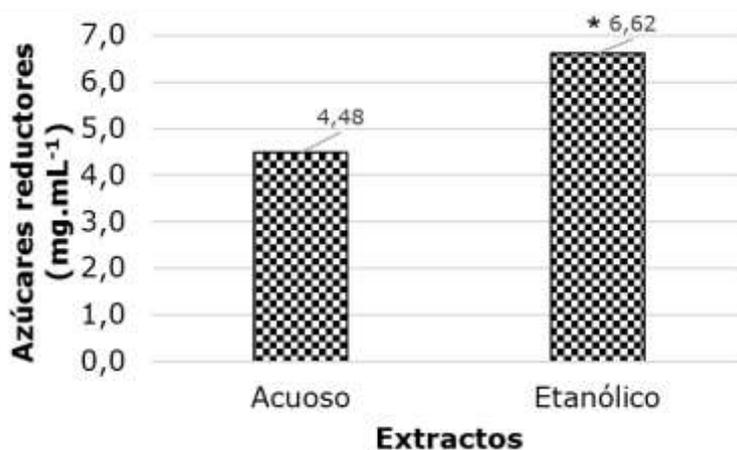


Figura 9. Contenido de azúcares reductores en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. *: indica diferencias significativas entre extractos según Prueba Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

Los resultados obtenidos coinciden con los referidos por Changmai *et al.* (2015), quienes observaron azúcares reductores en extractos de *R. communis* L. De manera similar, Naqvi *et al.* (2011) refirieron contenidos elevados de carbohidratos solubles totales y azúcares reductores en extractos de esta especie. Por otra parte, los resultados obtenidos no coinciden con los observados por Rao *et al.* (2013) quienes no detectaron azúcares reductores en extractos de *R. communis* L.

La cuantificación de azúcares reductores en los extractos estudiados, además de contribuir a la caracterización bioquímica de esta especie, tiene una importancia adicional, ya que estos compuestos interfieren en la extracción de saponinas, las cuales son de gran interés comercial para la industria farmacéutica (Guerra *et al.*, 2001).

Los azúcares son compuestos energéticos esenciales para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Sin embargo, también son esenciales en la síntesis de numerosos compuestos antioxidantes, los cuales protegen a las plantas de las especies reactivas del oxígeno que se producen durante la respiración aerobia. Por lo tanto, los azúcares constituyen el punto de partida para la producción de sustancias detoxificadoras, las cuales son responsables de la actividad biológica y el uso de muchas plantas con fines farmacológicos, alimenticios y agronómicos (Tsfay *et al.*, 2010).

4.2.2 Contenido de proteínas solubles totales

El contenido de proteínas solubles totales se muestra en la Figura 10, donde de manera similar, los mayores valores de estos compuestos se observaron en el extracto etanólico (14,66 mg.mL⁻¹).

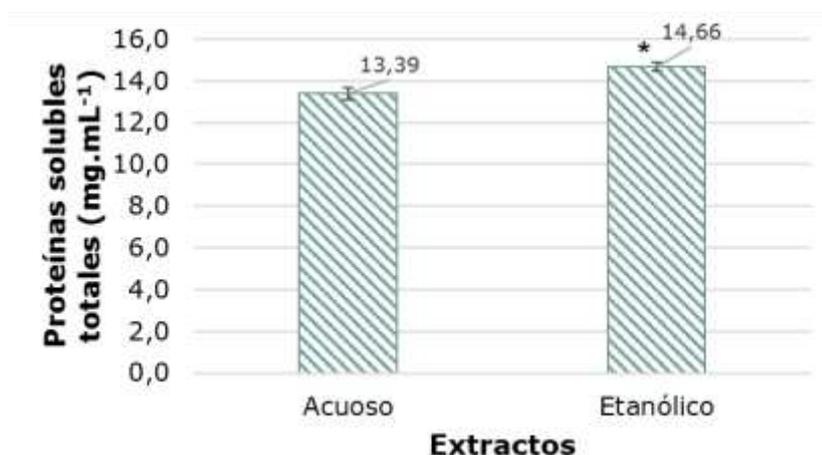


Figura 10. Contenido de proteínas solubles totales en extractos acuosos y etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. *: indica diferencias significativas entre extractos según Prueba Kruskal-Wallis ($P \leq 0,05$).

4.2.3. Contenido de polifenoles totales

Estos resultados coinciden con los obtenidos por Changmai *et al.* (2015) y Das *et al.* (2015) quienes detectaron altos contenidos de proteínas solubles totales en extractos de *R. communis* L.

En la Figura 11 se muestra el contenido de fenoles solubles, ligados a pared celular y totales en hojas de *Ricinus communis* L. La concentración de los fenoles ligados ($36,54 \text{ mg.mL}^{-1}$) fue superior a los solubles ($19,11 \text{ mg.mL}^{-1}$), con valores totales de $55,65 \text{ mg.mL}^{-1}$.

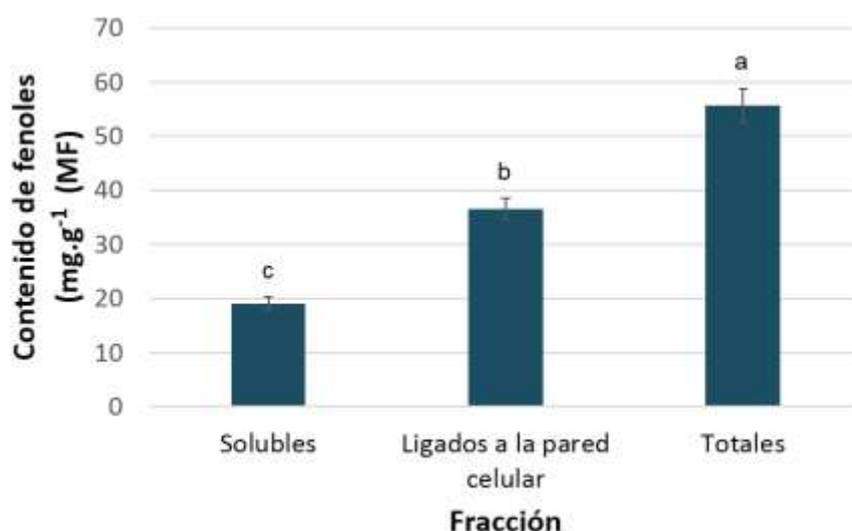


Figura 11. Contenidos de fenoles solubles, ligados a pared y totales en extractos de hojas de *Ricinus communis* L. Letras diferentes indican diferencias significativas entre extractos según Prueba de Student Newman-Keuls ($P \leq 0,05$).

La observación de compuestos polifenólicos en extractos de *R. communis* L. coincide con los resultados obtenidos por otros autores en esta especie (Changmai *et al.*, 2015). La presencia de estos compuestos también sugiere propiedades antioxidantes de los extractos de *R. communis* L. Varios autores plantean al respecto, que en la medida que aumenta la concentración de polifenoles se incrementa la capacidad antioxidante de los extractos (Brown y Rice-Evans, 1998; Krings y Berger, 2001).

4.3. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de *R. communis* L.

La actividad antimicrobiana se realizó con los extractos etanólicos ya que otros autores plantearon que tienen un efecto superior al extracto acuoso (Jena y Gupta, 2012). Los resultados frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas se muestran en la Tabla 6. El extracto mostró un efecto antimicrobiano notable frente a la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* con halos de inhibición de 15,33 mm; aunque fue estadísticamente inferior al control positivo (Figura 12).

Tabla 6. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. frente a *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus* sp. y *Klebsiella pneumoniae*.

Extractos	<i>S. aureus</i>		<i>E. coli</i>	
	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE
Amikazina (control +)	24 ^a	0,58	-	-
Cefalexina (control +)	-	-	14,83 ^a	0,58
Disolución hidroalcohólica	1,03 ^c	0,33	0,00 ^c	0,00
Extracto <i>R. communis</i> L.	15,33 ^b	0,88	5,67 ^b	0,67

Extractos	<i>Proteus</i> sp.		<i>Klebsiella</i> sp.	
	DZI (mm)	± EE	DZI (mm)	± EE
Amikazina (control +)	-	-	-	-
Cefalecina (control +)	12,00 ^a	0,33	4,00	0,2
Disolución hidroalcohólica	0,00 ^c	0,00	0,00	0,00
Extracto <i>R. communis</i>	8,67 ^b	0,88	0,00	0,00

DZI: diámetro de la zona de inhibición. Los datos representan medias de tres réplicas. Letras diferentes indican diferencia significativa según Test de Tukey (P≤0,05).

La actividad antimicrobiana del extracto evaluado frente a las bacterias Gram negativas *Escherichia coli*, *Proteus* sp. y *Klebsiella* sp. fue en general inferior al control (Cefalexina) y al resultado obtenido frente a *Staphylococcus aureus*. Los valores más altos de inhibición del extracto se observaron frente a *Proteus* sp. (8,67 mm). En el caso de *E. coli* la actividad del extracto fue de 5,67 mm de halo

de inhibición, mientras que frente a *Klebsiella* sp. el extracto no mostró ninguna actividad antimicrobiana.

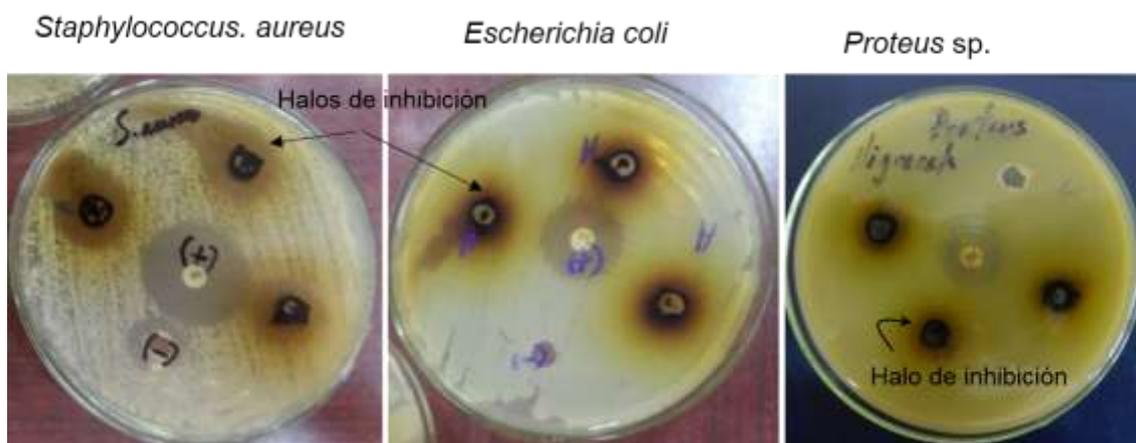


Figura 12. Actividad antimicrobiana de extractos etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. frente a *S. aureus*, *E. coli* y *Proteus* sp.

La diferencia observada con relación a la eficacia de los extractos contra las bacterias Gram positivas y Gram negativas, puede estar relacionada con la complejidad de las paredes celulares de estos grupos bacterianos. Las bacterias Gram negativas presentan una mayor complejidad que las Gram positivas, ya que las primeras poseen además de la capa de peptidoglicano, una capa de lipopolisacáridos que puede constituir un obstáculo para la entrada de metabolitos secundarios hidrosolubles hacia el interior de la célula, los cuales son responsables de la acción antimicrobiana (Madigan *et al.*, 2015).

La actividad antimicrobiana de extractos de *Ricinus communis* L. contra bacterias Gram positivas y Gram negativas fue descrita con anterioridad por varios autores (Kota y Manthri, 2011; Naqvi *et al.*, 2011; Singh, R. 2014).

Los resultados obtenidos coinciden con los referidos por Alugah e Ibraheem (2014) y con Inayor e Ibraheem (2014) quienes observaron una actividad antimicrobiana de los extractos contra *Staphylococcus aureus* y *Klebsiella halize*.

Los ensayos antimicrobianos revelaron que los extractos etanólicos de *R. communis* L. poseen una actividad inhibitoria alta contra *Proteus*. Estos resultados coinciden con los referidos por Singh y Geetanjali (2015). Sin embargo, los datos obtenidos no son congruentes con los referidos por

Khursheed *et al.* (2012), quienes no observaron una actividad inhibitoria frente a las cepas de *S. aureus* y *Proteus* sp.

La actividad antimicrobiana mostrada por los extractos etanólicos de *R. communis* L. frente a patógenos Gram positivos como Gram negativos, sugiere su empleo en el tratamiento de diferentes enfermedades infecciosas que afectan tanto a animales como al hombre.

4.4. Valoración económica-ambiental del uso de los extractos de *R. communis* L.

El empleo de nuevas plantas como fuente de metabolitos secundarios para el desarrollo de la industria médico-farmacéutica y agropecuaria, constituye una de las prioridades para numerosos investigadores, que buscan alternativas para el tratamiento de enfermedades infecciosas y relacionadas con el estrés oxidativo en humanos, animales afectivos y de interés zootécnico.

La higuera constituye una especie con muchas potencialidades para la obtención de metabolitos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes, debido a la presencia observada en la presente investigación y documentada, de compuestos bioactivos como flavonoides, taninos, saponinas y polifenoles con actividades de este tipo.

En el sector agropecuario estos compuestos bioactivos pueden contribuir a reducir los daños causados por microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, que son referidos como patógenos asociados a la mastitis bovina, que ocasionan daños al animal y a la calidad de la leche, con un impacto negativo directo sobre la economía (Cariddi, 2013). De manera similar, el uso de nuevas formulaciones con compuestos como los taninos presentes en altas concentraciones en hojas de esta especie, pueden contribuir al desarrollo de medicamentos para combatir enfermedades diarreicas causadas por *E. coli* en cerdos y otras especies, que también afectan la economía de los productores y la disponibilidad de carne para las poblaciones cubanas.

A pesar de las ventajas que presenta el uso de productos botánicos para el control de la mastitis y otras patologías de origen bacteriano, así como la accesibilidad a la materia prima y los bajos costos de producción, se requieren

de otros estudios *in vivo* y de toxicidad, que permitan determinar la efectividad y seguridad de los mismos en determinadas dosis.

5. CONCLUSIONES

- Se observó la presencia de flavonoides, terpenos, esteroides, taninos, saponinas y cumarinas, tanto en extractos de hojas de *Ricinus communis* L., los cuales poseen numerosas propiedades biológicas, y son de importancia en el desarrollo de la industria farmacéutica y agropecuaria.
- El contenido elevado de compuestos polifenólicos en hojas de *Ricinus communis* L., sugiere que esta especie tiene potencialidades como fuente de compuestos antioxidantes de utilidad en la medicina y en la conservación de alimentos.
- La actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos de hojas de *Ricinus communis* L. frente a bacterias Gram positivas y Gram negativas, indican un uso potencial de estos, para el tratamiento de enfermedades bacterianas de origen animal.

6. RECOMENDACIONES

- ✓ Evaluar las propiedades antimicrobianas y antioxidantes de extractos de aceites esenciales de semillas y de raíces de *Ricinus communis* L.
- ✓ Determinar el efecto antifúngico de extractos de diferentes órganos de *Ricinus communis* L.
- ✓ Realizar estudios de toxicidad con los extractos evaluados.
- ✓ Emplear otras técnicas físico-químicas que permitan determinar el principio activo de los extractos utilizados y las vías posibles de purificación.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Afolayan, A.J. 2003. Extracts from the shoots of *Arctotis artotoides* inhibit the growth of bacteria and fungi. *Pharm. Biol.* 41: 22.-25.
- AinilFarhan, M.U., Lee, P.C., How, S.E. y Jualang, A.G. 2013. Antibacterial activities of *Agave angustifolia* and *Pittosporum ferrugineum*. *Environmental Microbiology and Toxicology.* 1 (1): 15-17.
- Alugah, I. y Ibraheem, O. 2014. Whole plant screenings for flavonoids and tannins contents in Castor plant (*Ricinus communis* L.) and evaluation of their biological activities. *International Journal of Herbal Medicine.* 2 (2): 68-76.
- Aziz, S., Rabniwaz, A., Habib-ur-Rehman, Kh. y Ghani, S. 2016. Phytochemical and Biological Screening of *Ricinus communis* Seed Oil Grown Wild in Jammu & Kashmir. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry.* 5(3): 89-92.
- Barisi, N.I. y Omodele, I. 2014. Assessing *Ricinus communis* L. (castor) whole plant parts for phenolics and saponins constituents for medicinal and pharmaceutical applications. *International Journal of Advances in Pharmacy, Biology and Chemistry.* 3(4): 815-826. ISSN: 2277-4688.
- Barrueta, O., Martín, C.V., Castellanos, L. y Jiménez, R. 2017. Extracto acuoso de *Euphorbia lactea* Haw como alternativa local para el control de *Plutella xylostella* L. en col. *Revista Centro Agrícola.* 44 (1): 49-55.
- Beenish, J., Misbah, R.N. y Javed, K. 2015. Antimicrobial studies of *Ricinus communis* seeds extracts. *International Journal of scientific research and management.* 3(5): 2752-2759. ISSN: 2321-3418.
- Benone, S., Gomes, G., Lucena, E., Mota, R., Ponce, P., Ruiz, A. y Sampaio, E. 2011. Prevalencia de mastitis bovina subclínica y microorganismos asociados: Comparación entre ordeño manual y mecánico, en Pernambuco, Brasil. *Rev. Salud Anim.* 33(1): 57-64.
- Bereket, A., Samuel, S. y Feleke, M. 2014. *In vitro* antibacterial activity of leaf extracts of *Zehneria scabra* and *Ricinus communis* against *Escherichia coli*

and methicillin resistance *Staphylococcus aureus*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 4(10): 816-820.

Blake, G.J. y Ridker, P.M. 2003. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary symptoms. *Journal of the American College of Cardiology*. 4 (4): 37-42.

Blanco, A.J. 2006. Serotipos y genes de virulencia de *Escherichia coli* enteropatógenos porcino, desarrollo de una nueva vacuna: COLIDEX-C. Disponible en: [http://www.lugo.usc.es/ecoli/AM-Res-Jorge Blanco.doc](http://www.lugo.usc.es/ecoli/AM-Res-Jorge_Blanco.doc). Consulta: abril de 2018.

Botta, S., Del Piñal, C.S., De la Luz, M., Cortázar, R. y Leiseca, A. 1990. Manual de Botánica Sistemática. Apuntes para un libro de texto. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana.

Brown, J.E. y Rice-Evans, C.A. 1998. Luteolin rich artichoke extract protects low density lipoprotein from oxidation *in vitro*. *Free Radical Res*. 29: 247-255.

Cabrales, R.A., Marrugo J.L., Abril, J.L. 2014. Rendimientos en semilla y calidad de los aceites del cultivo de higuierilla (*Ricinus communis* L.) en el Valle del Sinú, departamento de Córdoba. ISBN: 978-958-9244-67-8.

Caltagirone, S., Rossi, C., Poggi, A., Ranelletti, F.O., Natali, P.G., Brunetti, M., Aiello, F.B. y Piantelli, M. 2000. Flavonoids apigenin and quercetin inhibit melanoma growth and metastatic potential. *International Journal at Cancer*. 87 (4):595-600.

Cariddi, L.N. y Montironi, D. 2013. Evaluación de la actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Minthostachys verticillata* y uno de sus compuestos mayoritarios sobre cepas aisladas de mastitis bovina. *Dominguezia*. 29 (suplemento).

Castro, M.D., Campal, A., Arteaga, N., Miranda, A., Junco, J., León, L., Casas, S., Álvarez, T. y Fuentes, F. 2002. Immunodetection of colonizing antigens in enterotoxigenic *Escherichia coli* cells isolated from piglets with diarrhoea in Cuba. 6to Congreso Latinoamericano de Inmunología y 3er Congreso Cubano de Inmunología. La Habana. Cuba. Diciembre 9-13.

- Changmai, M., Chetia, J., Upadhyaya, S., Yadav, N.R.S. y Bhuyan, M. 2015. Phytochemical and Biochemical Analysis of Two Host Plants of Eri Silkworm, *Samia ricini* (D.). *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 32(2): 187-192.
- Chigodi, M.O., Samoei, D.K. y Muthangya, M. 2013. Phytochemical screening of *Agave sisalana* Perrine leaves (waste). *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.* 4 (4): 200-204.
- Córdoba, O.J. 2012. Comportamiento ecofisiológico de variedades de higuera (*Ricinus communis* L.) para la producción sostenible de aceite y biodiesel en diferentes agroecosistemas colombianos. Medellín. Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia.
- Cragg, G.M. y Newman, D.J. 2001. Medicinals for the Millennium. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 953: 3-25.
- Cuevas-Rodríguez, E.O., Dia, V.P., Yousef, G.G., García-Saucedo, P.A., López-Medina, J., Paredes-López, O., González de Mejía, E. y Lia, M.A. 2010. Inhibition of pro-inflammatory responses and antioxidant capacity of Mexican black berry (*Rubus* spp.) extracts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 58 (17): 9542-9548.
- Das, S., Jamal, S., Dutta, M., Rej, S. and Chatterjee, S. 2015. Comparative Phytochemical Analysis and Antimicrobial Activity of Four Medicinal Plants. 6(4): 191-199
- Fernández-Herrera, M.A., López-Muñoz, H., Hernández-Vázquez, J.M.V., Sánchez-Sánchez, L., Escobar-Sánchez, M.L., Pinto, B.M. y Sandoval-Ramírez, J. 2012. "Synthesis and selective anticancer activity of steroidal glycoconjugates". *European Journal of Medicinal Chemistry.* 54: 721-727.
- Fernández-Herrera, M.A., Sandoval-Ramírez, J., Meza-Reyes, S. y Montiel-Smith, S. 2009. Side-chain opening of steroidal sapogenins to form 22-oxocholestanic skeletons: An approach to analogues of the aglycone of the potent anticancer agent OSW-1. *Journal of the Mexican Chemical Society.* 53 (3): 126-130.

Francis, D.H. 1999. Colibacillosis in pigs and its diagnostics. *Swine Health Prod.* 7(5): 241-244.

Gasque, R. 2015. Mastitis bovina. Sitio Argentino de Producción Animal. Disponible en www.produccion-animal.com.ar, consultado el 12 de Junio del 2018.

Geary, U.N., López-Villalobos, N., Begley, F., McCoy, B., O'Brien, L., O'Grady, L. y Shaloo. 2012. Estimating the effect of mastitis on the profitability of Irish dairy farms. *J. Dairy Sci.* 95: 3662-3673.

Gómez-Calvario, V., Arenas-González, A., Meza-Reyes, S., Montiel-Smith, S., Vega-Báez, J.L., Sandoval-Ramírez, J. y Hernández-Linares, M.G. 2013. Synthetic pathway to 22,23-dioxocholestanic chain derivatives and their usefulness for obtaining brassinosteroid analogues. *Steroids.* 78(9): 902-908.

González, C.T. 2008. La higuera (*Ricinus communis* L.) notas y usos. Medicinas tradicionales y alternativas. Disponible: http://www.tlahui.com/medic/medic25/higuera_elia.htm. Consulta: octubre, 2017.

González-Valdez, L.S., Almaraz-Abarca, N., Proal-Nájera, J.B., Robles-Martínez, F., Calencia-Del-Toro, G. y Quintos-Escalante, M. 2013. Surfactant properties of the saponins of *Agave durangensis*, aplicación on arsenic removal. *International Journal of Engineering and Applied Sciences.* 4(2): 87-94.

Guerra de L.J.O., Nogueiras, C., Delgado, R. y Hernández, O. 2001. Determinación cuantitativa de saponinas y azúcares reductores de *Agave briottoniana* T. *Revista Cubana de Química.* 13(3): 37-42.

Gupta, S., Afaq, F. y Mukhtar, H. 2001. Selective growth-inhibitory, cell-cycle regulatory and apoptotic response of apigenin in normal versus human prostate carcinoma cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications.* 287(4): 914-920.

Gurr, S.I., Mc Pherson, M.I. y Bowles, D.J. 1992. Lignin and associated phenolic acids in cell walls. *Molecular Plant Pathology and Practical Approach*. 3: 62-69.

Han, X., Shen, T. y Lou, H. 2007. Dietary polyphenols and their biological significance. *International Journal of Molecular Sciences*. 8: 950-988.

Herbotecnia, 2004. *Ricinus communis* L. Disponible en: <http://www.herbotecnia.com.ar/exo-ricino.html>. Consulta: octubre, 2017.

Inayor, B. N. y Ibraheem, O. 2014. Assessing *Ricinus communis* L. (castor) whole plant parts for Phenolics and Saponins constituents for Medicinal and Pharmaceutical applications. 3(4): 815- 826.

Jain, P.K. y Joshi, H. 2012. Coumarin: Chemical and Pharmacological Profile. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 02 (06): 236-240.

Jena, J. y Gupta, A.K. 2012. *Ricinus communis* Linn: A. Phytopharmacological review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(4): 25-28.

Jeyaseelan, E.C. y Jashothan, P.T. 2012. *In vitro* control of *Staphylococcus aureus* (NCTC 6571) and *Escherichia coli* (ATCC 25922) by *Ricinus communis* L. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2 (10): 717-721.

Kaur, H. P., Singh, N. y Singh, I. 2016. Analysis of phytochemicals, antibacterial and antioxidant activities of *Ricinus communis* L. *World journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. 5(11): 1152-1161.

Kaur, H.P., Singh, N. y Singh, I. 2016. Analysis of phytochemicals, antibacterial and antioxidant activities of *Ricinus communis* L. 5 (11): 1152-1161.

Kensa, V.M. y Syhed, Y.S. 2011. Phytochemical screening and antibacterial activity on *Ricinus communis* L. *Plant Sciences Feed*. 1 (9):167-173.

Khursheed, R., Naz, A., Naz, E., Sharif, H. y Rizwani, G.H. 2012. Antibacterial, antimycelial and phytochemical analysis of *Ricinus communis*

Linn, *Trigonella foenum grecum* Linn and *Delonix regia* (Bojer ex Hook.) Raf of Pakistan. *Romanian Biotechnological Letters*. 17(3): 7237 – 7244.

Koes, R.E., Quattrocchio, F. y Mol, J.N.M. 1994. The flavonoid biosynthetic pathway in plants: function and evolution. *BioEssays*. 16(2): 123-132.

Kong, J.M., Goh, N.K., Chia, L.S. y Chia, T.F. 2003. Recent advances in traditional plant drugs and orchids. *Acta Pharmacologica Sinica*. 24: 7-21.

Kota, C.S. y Manthri, S. 2011. Antibacterial activity of *R. communis* leaf extract, *International journal of Pharmaceutical Sciences and research*. 25: 1259-1261.

Krings, U. y Berger, R.G. 2001. Antioxidant activity of roasted foods. *Food Chem*. 72: 223-229.

Lowry, O.H., Rosebrough, N.J., Farr, A.L. y Randall, R. 1951. Protein measurement the Folin phenol reagent. *J Biol Chem*. 193: 265-275.

Madigan, M.T., Martinko, J.M., Bender. K., Buckley, S. y Stahl, D.A. 2015. *Brock Biology of Microorganism*. 14 Ed. Página 74- 81.

Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Remesy, C. y Jimenez, L. 2004. Polyphenols: food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79 (5): 727-747.

Manoharan, S. y Kaur, J. 2013. Anticancer, Antiviral, Antidiabetic, Antifungal and Phytochemical Constituents of Medicinal Plants. *American Journal of Pharmtech Research*. 3 (4): 150-169.

Martínez, M.A. 2005. Quinonas y compuestos relacionados. Universidad de Antioquia. Disponible en: <http://farmacia.udea.edu.co/ff/quinonas.pdf>. Consulta: abril 2018.

Martínez-Valverde, I., Peragio, M.J. y Ros, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 50 (1): 5-18.

McOrisT, S. 2014. Infecciones por *Escherichia coli* en cerdos. Disponible en: https://www.3tres3.com/articulos/infecciones-por-escherichia-coli-en-cerdos-1-de-2_34427/. Consulta: marzo, 2018.

Medina, K. y Barrera, E. 2016. Diversidad de los compuestos orgánicos bioactivos de origen natural: una singularidad manifestada por la plasticidad en el metabolismo secundario. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*.12 (2): 252-269.

Mejías, B. 2013. Infecciones con *Staphylococcus*. Disponible en patologiaaviarmidiagnostico.blogspot.com/2013/02. Consulta abril de 2018.

Miller, G. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.* 31: 426-428.

Momoh, A.O., Oladunmoye, M.K. y Adebolu, T.T. 2012. Evaluation of the Antimicrobial and Phytochemical Properties of Oil from Castor Seeds (*Ricinus communis* Linn). *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*. 1(10): 21 – 27.

Mongiello, C.N. 2015. Recino. *Revista Boletín Biológica*. 9 (34): 40- 46

Moraleda, P.A. 2005. Efectividad de la Aplicación de Solución de Miel como Coadyuvante en el Control de la Mastitis Bovina. Tesis presentada como parte de los requisitos para optar al grado de licenciado en Ciencias de los Alimentos. Universidad austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias.

More, P., Rathod, G. y Pandhure, N. 2014. Phytochemical Analysis and Antibacterial Activity in *Ricinus Communis* L. *Periodic Research*. 3(1): 49- 51.

Nagy, B. and Fekete, P.Z.1999. Enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC) in farm animals. *Vet Res* (30):259-284.

Naqvi, S.H., Dahot, M.U., Rafiq, M., Khan, M.Y., Ibrahim, I., Lashari, K.H., Ali. A. y Korai, A.L. 2011. Anti-microbial efficacy and biochemical analysis from different parts of *Acacia nilotica* L. and *Ricinus communis* L. *Journal of medicinal plant research*. 5: 6299-6308.

Nathan, C. y Ding, A. 2010. Nonresolving inflammation. A discussion of the abnormalities that lead to chronic inflammation. *Cell*. 140:871.

Naz, R. y Bano, A. 2012. Antimicrobial potential of *Ricinus communis* leaf extracts in different solvents against pathogenic bacterial and fungal strains. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. 2(12): 944-947.

Niranjan, K., Sathiyaseelan, V. y Jeyaseelan, E.C. 2013. Screening for antimicrobial and phyto chemical properties of different solvents extracts of leaves of *Pongamia pinnata*. *International Journal of Scientific and Research Publications*. 3(1): 1-6.

O'Leary, K.A., de Pascual-Tereasa, S., Needs, P.W., Bao, Y.P. O'Brien, N.M. y Williamson, G. 2004. Effect of flavonoids and vitamin E on cyclooxygenase-2 (COX-2) transcription. *Mutation Research*. 551 (1-2): 245-254.

Parekh, J. y Chanda, S. 2006. Antibacterial and phytochemical studies on twelve species of Indian medicinal plants. *African Journal of Biomedical Research*. 10: 175-181.

Pastene, E.R. 2009. Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 8 (6): 449 – 455.

Pérez, C., Paul, M. y Bazerque, P. 1990. An antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta Bio. Med. Exp*. 15: 113- 115.

Philpot, W.N. y Nickerson, S.C. 2000. Ganando la lucha contra la mastitis. 22-27, cap XVIII, 114-119.

Polagruto, J.A., Scharamm, D.D., Wang-Polagruto, J.F., Lee, L. y Keen, C.L. 2003. Effects of flavonoid-rich beverages on prostacyclin synthesis in humans and human aortic endothelial cell: association with ex vivo platelet function. *Journal of Medicinal Food*. 6(4): 301-308.

Poonam, K. y Pratap, S.K. 2012. Antimicrobial activities of *Ricinus communis* against some human pathogens. *International Research Journal of Pharmacy*. 3 (7): 209-210.

Pyorala, S. 2002. New Strategies to Prevent Mastitis. *Reprod. Dom. Animal*. 37 (4): 211-216.

Rahman, K. 2007. Studies on free radicals, antioxidants and cofactors. *Clinical Interventions in Aging*. 2 (2): 219-236.

Rahmati, H., Salehi, S., Malekpour, A. y Farhangi, F. 2015. Antimicrobial activity of castor oil plant (*Ricinus communis* L.) seeds extract against Gram

positive bacteria, Gram negative and yeast. *International Journal of Molecular Medicine and Advance Sciences* 11 (1): 9-12. ISSN: 1813-176X.

Ramírez, I. C. 2017. Potencial de uso de la torta de higuierilla (*Ricinus communis*) como suplemento alimenticio para la producción bovina. Medellín. Tesis en opción al título de Máster en Ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Colombia.

Rana, M., Dhamija, H., Prashar, B. y Sharma, S. 2012. *Ricinus communis* L. A Review. *International Journal of Pharm Tech Research*. 4(4): 1706-1710.

Rao, N., Mittal, S. y Menghani, E. 2013. Assessment of phytochemical screening, antioxidant and anti-bacterial potential of the methanolic extract of *R. communis* Linn. *Asian journal of Pharm. Tech*. 3(1): 20-25.

Reddy, B.S., Reddy, B.P., Raghavulu, S.V., Ramakrishna, S., Venkateswarlu, Y. y Diwan, P.V. 2008. Evaluation of antioxidant and antimicrobial properties of *Soyimida febrifuga* leaf extracts. *Phytotherapy Research*. 22: 943-947.

Ribeiro, P., Castro, R. y Fernandez, L. 2016. Chemical constituents of the oilseed crop *Ricinus communis* and their pharmacological. *Activitiea*. 91: 358-376.

Rico, H.R., Tapia, L.M., Teniente, R., González, A., Hernández, M., Solís, J. L. y Zamarripa, A. 2011. Guía para cultivar higuierilla (*Ricinus communis* L.) en Michoacán. Folleto Técnico. Número 1. ISBN 978-607-425-544-7.

Romero-Gonzalez, J.R. Peralta-Videa, E. Rodriguez, M. Delgado, J.L. y Gardea-Torresdey. 2006. Potential of *Agave lechuguilla* biomass for Cr(III) removal from aqueous solutions: Thermodynamic studies. *Bioresour. Technol*. 97: 178-182.

Ruíz-Pérez, K.M., Romero-Ávila, M., Tinajero-Delgado, V., Flores-Alamo, M. y Iglesias-Arteaga, M.A. 2012. "BF₃.Et₂O-induced stereoselective aldol reaction with benzaldehyde, and steroid sapogenins and its application to a convenient synthesis of dinorcholanic lactones". *Steroids*. 77 (7): 819-828.

Salman, I.S.,Habeeb, H.M., Hassan, I.A., Jasaa, L.A., Saleh, G.S. y Helal, Z.H. 2017. Effect of ethanolic extract of *Ricinus communis* L. on some

Biochemical parameters and hormones in male mice. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. 18 (2): 848-854.

Santos, J.D.S. y Branco, A. 2014. GC-MS Characterisation os sapogenins from sisal waste and a method to isolate pure hecogenin. *BioResources* 9 (1): 1325-1333.

Saran, A. y Chaffer, M. 2000. Mastitis y calidad de la leche. Buenos Aires. Inter- Médica.

Sharma, A., Shanker, C., Tyagi, L., Singh, M. y Rao, C.V. 2008. Herbal Medicine for Market Potential in India: An Overview. *Academic Journal of Plant Sciences*. 1: 26-36.

Sharma, M. Youf, M. Hussain, A. Hussain, S., Romana, M. y Nazir, S. 2013. Phyto and pharmacological value of *Ricinus communis* L. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 5 (2):014- 023.

Sharma, N., Singh, N.K. y Bhadwal, M.S. 2011. Relationship of Somatic Cell Count and Mastitis: An Overview. *Asian-Aust. J. Anim. Sci.* Vol. 24, No. 3: 429 – 438.

Sigarroa, A. 1985. *Biometría y Diseño Experimental*. La Habana. Editorial Pueblo y Educación. 743 p.

Singh, R. 2014. *In vitro* antibacterial activity of hexane and ethanolic leaf extracts of *Ricinus communis* L. *International Journal of Research in Botany*. 4(3): 31-33.

Singh, R. y Geetanjali., L. 2015. Phytochemical and Pharmacological Investigations of *Ricinus communis* Linn. *Algerian J. Nat. Products*. 3(1): 120-129.

Singh, R., Singh, S., Kumar, S. y Arora, S. 2007. Evaluation of antioxidant potential of ethyl acetate extract/fractions of *Acacia auriculiformis*. *A. Cunn. Food and Chemical Toxicology*. 45: 1216-1223.

Solera, P., Moreira, I. y Hernández, J. 2014. Descriptores botánicos para caracterizar germoplasmas de *Ricinus communis* de diferentes zonas de Costa Rica. *Tecnología en Marcha*. 28 (1): 37-46

- Strasburger, E.F., Noll, H. y Schimper, A.F.W. 1971. Tratado de Botánica. Barcelona: Marin. P. 582.
- Swaati, S., Nitika, V. y Veena, G. 2014. Screening of phytochemical constituents of hydro-ethanolic extracts of aerial parts of *Pithecellobium dulce* and *Ricinus communis*. *Research Journal of Chemical Sciences*. 4 (8): 54-57. ISSN: 2231-606X.
- Taiz, L. y Zeiger, E. 2006. Plant Physiology. Ed. Sinauer Associates. Cuarta Edición. San Diego, C.A. pp 542-557.
- Tesfay, S.Z., Bertling, I. y Bower, J.P. 2010. Anti-oxidant levels in various tissues during the maturation of 'Hass' avocado (*Persea americana* Mill.). *Journal of Horticultural Science & Biotechnology*. 85 (2): 106-112.
- Tevini, M., Braun, J. y Fieser, G. 1991. The protective function of the epidermal layer of rye seedlings against ultraviolet-B radiation. *Photochemistry and Photobiology*. 53: 329-333.
- Tosetti, F., Ferrari, N., De Flora, S. y Albini, A. 2002. Angioprevention: angiogenesis is a common and key target for cancer chemiopreventive agents. *The FASEB Journal*. 16: 2-14.
- Vandita, P., Amin, N., Khyati, P. y Monish, K. 2013. Effect of phytochemical constituents of *R. communis*, *Pterocarpus santalinum*, *Terminalia belerica* on antibacterial, antifungal and cytotoxic activity. *International journal of Toxicological and pharmacological Research*. 5(2): 47-54.
- Venereo, G.J.R. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*. 31(2): 126-133.
- Visioli, F., Borsani, L. y Galli, C. 2000. Diet and prevention of coronary heart disease: the potential role of phytochemicals. *Cardiovascular Research*. 47: 419-425.
- Vivianco, J.M., Cosio, E., Loyola-Vargas, V.M. y Flores, H.E. 2005. Mecanismos químicos de defensa en las plantas. *Investigación y Ciencia*. 341 (2): 68-75.

VuKhad, H., Holada, E., Pilipcinec, E., Blanco, M., Blanco, J.E., Mora, A., Dhab, G., Lopez, C., González, E.A., Blanco, J. 2006. Serotypes, virulence genes, and PFGE profiles of *Escherichia coli* isolated from pigs with postweaning diarrhoea in Slovakia. *Vet. Rec.* 20: 2-10.

Wang, Z.Y., Liu, H.P., Zhang, Y.C., Guo, L.Q., Li, Z.X. y Shi, X.F. 2012. Anticancer potential of *Euphorbia helioscopia* L. extracts against human cancer cells. *Anat Rec.* 295: 223-233.

Westh, H., Zinn, C.S. y Rosdahl, V.T. 2004. An international multicenter study of antimicrobial consumption and resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from 15 hospitals in 14 countries. *Microbial Drug Resistance.* 10: 169-176.

WHO, 2005. Global atlas of traditional, complementary and alternative medicine. World Health Organization, Geneva.

Wong, I., Bover, E., Ramos, M., Gonzalez, N., Exposito, M., Segura, R.E., Salazar, E., Agraz, A., Jiménez, I., Herrera, L. y de la Fuente, J. 1996. Eficacia en condiciones de campo de una vacuna recombinante contra la colibacilosis porcina. *Bioteconología Aplicada.* 13: 16-19.

Zhao, Y., Wu, Z. y Wang, M. 2015. Bioactive Substances of Plant Origin. *Handbook of Food Chemistry.* DOI 10.1007/978-3-642-36605-5_13.