

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

The seal of the University of San Carlos of Guatemala is a circular emblem. It features a central figure of a woman in a crown, likely the Virgin Mary, holding a child. Above her is a crown with a cross. To the left and right are castles and a lion. Below the central figure is a knight on a horse, holding a lance. The entire scene is set against a background of mountains. The Latin motto "ORBIS CONSPICUA CAROLINA ACADEMIA COACTEMALENSIS INTER CETERAS" is inscribed around the perimeter of the seal.

**DESCRIPCIÓN DE CARACTERES FARMACOBOTÁNICOS
DE *OCIMUM MICRANTHUM* (ALBAHACA)**

**MIRNA AMABEL CASTILLO GARCÍA
MERCY JOSEFINA PÉREZ RODRÍGUEZ**

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, ABRIL DE 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA



DESCRIPCIÓN DE CARACTERES FARMACOBOTÁNICOS DE *OCIMUM MICRANTHUM* (ALBAHACA)

SEMINARIO DE INVESTIGACIÓN

PRESENTADO POR

MIRNA AMABEL CASTILLO GARCÍA
MERCY JOSEFINA PÉREZ RODRÍGUEZ

PARA OPTAR AL TÍTULO DE

QUÍMICAS BIÓLOGAS

GUATEMALA, ABRIL DE 2011

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cobar Pinto, Ph.D

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.

Secretario

Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.

Vocal I

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal II

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

Vocal III

Br. José Roy Morales Coronado

Vocal IV

Br. Cecilia Liska de León

Vocal V

INDICE

I. RESUMEN	1
II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACION	3
III. ANTECEDENTES	4
A. Las plantas y sus usos	4
B. Plantas Medicinales	4
C. Control de Calidad	17
D. Descripción Botánica y Morfología Vegetal	26
E. Material Vegetal de Estudio	28
IV. JUSTIFICACION	35
V. OBJETIVOS	36
VI. HIPOTESIS	37
VII. MATERIALES Y METODOS	38
VIII. RESULTADOS	49
A. Características macroscópicas y descripción botánica	49
B. Caracteres micromorfológicos e histológicos	51
C. Tamizaje Fitoquímico	63
D. Cartilla micrográfica	68
E. Determinación de humedad y contenido de cenizas totales	70
IX. DISCUSION DE RESULTADOS	71
X. CONCLUSIONES	74
XI. RECOMENDACIONES	75
XII. REFERENCIAS	76
XIII. ANEXOS	81

I. RESUMEN

La albahaca es una planta con propiedades medicinales y culinarias bien conocidas y en Guatemala se utilizan dos especies, una introducida, *Ocimum basilicum* y una nativa, *Ocimum micranthum*. Hasta el momento no hay datos reportados que permitan el control de calidad de la especie nativa cuando se encuentra seca y fragmentada o cuando se recolecta fresca en forma silvestre. Por lo tanto se propuso este estudio, que permitió establecer parámetros anatomorfológicos, fitohistológicos y fitoquímicos, así como otros caracteres de identidad y pureza necesarios para la correcta identificación del material vegetal de *Ocimum micranthum* especialmente cuando se utilizará como materia medicinal.

Se realizó la identificación y caracterización macroscópica de la especie, así como la caracterización micromorfológica por medio de cortes a mano alzada, disociado débil de hoja y tallo, diafanizado de hoja y determinación del índice de estomas y de empalizada; por último se realizó la identificación de metabolitos secundarios a través de pruebas histoquímicas y cromatografía en capa fina.

El estudio se realizó para la misma especie vegetal proveniente de tres localidades distintas de Guatemala, con el fin de investigar si la altitud de las regiones donde se recolectaron las muestras podría causar diferencias en caracteres farmacobotánicos de las plantas.

Entre las características microscópicas encontradas en las hojas de *O. micranthum* se pueden mencionar, estructura dorsiventral, venación reticulada cerrada y estomas diacíticos, su tallo con morfología cuadrangular característica de la familia *Lamiaceae*, células de corcho y esclereidas. El colénquima angular, xilema helicoidal, glándulas productoras de aceite sobre depresiones epidérmicas y diferentes tipos de tricomas fueron identificados tanto en hoja como en tallo de la materia vegetal.

En el tamizaje fitoquímico de la hoja y el tallo dieron positivo los alcaloides, grasas y aceites, mucílagos, saponinas y flavonoides y negativo para almidones y taninos, lo

cual concuerda con lo reportado en la literatura. También se determinaron otras características de identidad y pureza como el contenido de humedad y cenizas totales. No se encontraron diferencias entre las muestras de distinto origen.

Adicionalmente se establecieron los procedimientos operativos estándar (POE) para la caracterización micromorfológica e histológica e identificación microquímica de cualquier especie botánica para ser utilizados en consultas posteriores, en los manuales de la Unidad de Bioensayos del departamento de Citohistología.

II. ÁMBITO DE LA INVESTIGACIÓN

El estudio realizado forma parte de las muchas investigaciones en las que nuevamente la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, a través de la Unidad de Bioensayos del departamento de Citohistología y la colaboración de la Unidad de Ciencias de la Facultad de Agronomía, impulsa el desarrollo de estudios enfocados en plantas medicinales nativas del país.

La farmacobotánica es una rama de la farmacognosia que se encarga de la caracterización botánica y química de las especies vegetales medicinales. Incluye el análisis macroscópico, microscópico y el tamizaje fitoquímico de la materia vegetal. A través de este estudio se pudo obtener información necesaria para la posterior elaboración de una monografía farmacopeica de control de calidad de la albahaca de monte, *Ocimum micranthum*, para establecer los estándares que deben cumplirse en la selección de material vegetal para la elaboración de productos de uso principalmente medicinal y culinario. La información recabada permitirá aumentar la base de datos sobre productos medicinales con que cuenta dicho departamento.

III. ANTECEDENTES

A. Las plantas y sus usos

Los productos naturales de origen vegetal son recursos renovables de múltiple uso para el hombre. Le proporcionan alimentos para la subsistencia, fibras textiles para vestirse y material para construir casas; le deleitan por su aroma y colorido; le curan o intoxican, según sus propiedades; y regeneran el aire que respira. Por su participación en los ciclos biológicos, las plantas son indispensables para la supervivencia del hombre (1).

B. Plantas medicinales

Las plantas medicinales son todas aquellas plantas que contienen, en alguno de sus órganos, principios activos, los cuales, administrados en dosis adecuadas, producen efectos curativos tanto en las enfermedades del hombre como de los animales. Se calcula en unas 260,000 las especies de plantas que se conocen en la actualidad, de las que el 10% se pueden considerar medicinales. Evidentemente la proporción de especies medicinales puede variar de este porcentaje, ya que no se conoce la totalidad de la flora (2,3).

1. Historia

La historia de la fitoterapia tiene sus orígenes en los inicios de la humanidad, desde que aparecen registros fiables. Al principio se utilizaba a través de rituales mágicos. El uso desde tiempos antiguos de las plantas para curar, se pone de manifiesto por la existencia de herbarios desde la época de los sumerios, los asirios, los babilonios o los fenicios. El Papiro de Ebers (1799 antes de Cristo), con más de 20 metros de longitud, encontrado en las ruinas de Luxor, recoge por lo menos el uso medicinal de 700 plantas, como el ajo o la adormidera. En China y el resto de Asia el uso de plantas para tratar enfermedades se remonta a más de 10,000 años. Fueron los griegos y los

romanos los primeros en sistematizar el estudio de las plantas medicinales en Occidente por medio de sus conocidos escritos (2).

2. Importancia de las plantas medicinales

La importancia de las plantas medicinales se hace más patente en la actualidad tanto en los países en vías de desarrollo como en los países tecnológicamente avanzados. Gracias a los análisis bioquímicos se han podido determinar cuáles son los componentes principales o principios activos de las plantas medicinales, y así conseguir su validación y posterior utilización en la medicina moderna (4).

La capacidad de la industria química moderna de producir estos principios sin la ayuda de las plantas, no niega la importancia que éstas tienen y seguirán teniendo en el futuro. Existe un gran número de plantas que no han sido investigadas y cuyos principios activos podrían ser decisivos en la cura y prevención de enfermedades actuales y venideras, además de su efecto sinérgico y del apoyo que prestan a la medicina en el tratamiento de enfermedades muy complejas (4).

Las plantas medicinales forman parte del gran potencial en recursos naturales que posee Guatemala. En forma específica, la etnobotánica médica representa un papel importante dentro de las comunidades rurales del país constituyéndose en reservorio genético, cultural y de acceso a la salud de bajo costo; además, permite (a quienes la practican) obtener ingresos económicos y fuentes de trabajo implicadas en todo el proceso de uso y manejo. En la actualidad, por múltiples razones las plantas medicinales se encuentran en una posición marginal que dificulta su pleno desarrollo (5).

Sin embargo, las plantas medicinales siguen considerándose como un cultivo estratégico, tanto desde el punto de vista agrícola como el médico; ya que aprovechan la biodiversidad vegetal y optimizan el minifundio y el terreno quebrado. Genera además valor agregado por el proceso, fabricación y formulación de fitofármacos, aumentando la cobertura de salud; de igual forma, responden bien al poli cultivo y a la

silvicultura fortaleciendo la identidad nacional, sin omitir la posibilidad de mercado regional e internacional (5).

3. Componentes de las plantas y su acción

En el curso de su crecimiento, las plantas medicinales, sintetizan y almacenan algunas sustancias de importancia, conocidas como principios activos. Sin embargo, no todos estos productos metabólicos tienen un valor medicinal directamente aprovechable. En todas las especies están presentes, al mismo tiempo, principios activos y sustancias indiferentes o de lastre. Estas últimas determinan la eficacia del medicamento vegetal en cuestión al acelerar o hacer más lenta la absorción de los primeros en el organismo. Esta es una de las peculiaridades de los medicamentos de origen vegetal (6).

Por lo general, en una misma planta existen varios componentes medicinalmente activos, de los cuales uno de ellos, el principal, determina las aplicaciones que tendrá la especie vegetal. Estos componentes principales o principios activos no se distribuyen de manera uniforme por toda la planta, y su contenido en la misma varía dependiendo del hábitat, método de recolección y de preparación. Esto último puede evitarse en gran medida recolectando en la época más adecuada y preparándola con el máximo cuidado (6, 7).

La fitoquímica, o química botánica, es la encargada del estudio de esas sustancias activas, de su estructura, su distribución en la planta, sus modificaciones y procesos de transformación experimentados a lo largo de la vida de la planta (8).

Existen dos tipos de sustancias activas en las plantas medicinales: los productos del metabolismo primario, que son sustancias formadas en todas las plantas verdes, gracias a la fotosíntesis y que les resultan indispensables para vivir; el segundo tipo de sustancias está compuesto por productos del metabolismo secundario; es decir resultantes de procesos originados principalmente por la asimilación del nitrógeno.

Estos productos parecen a veces inútiles para la planta, pero sus efectos terapéuticos son por el contrario destacables (7).

a. Alcaloides

Son sustancias orgánicas de origen vegetal con una actividad fisiológica muy intensa en dosis pequeñas. Contienen nitrógeno en su molécula y con frecuencia se presentan combinados con ácidos orgánicos o taninos (7).

Se trata, en su mayor parte, de venenos vegetales muy activos, dotados de una acción específica. Normalmente la medicina los emplea en estado puro, y su auténtico valor sólo se asegura en las manos del médico (8).

Se estima que solo un 10% de las especies botánicas presentan alcaloides, sin embargo en la actualidad se conocen más de 4,000 alcaloides. Su gran actividad exige una preocupación en su utilización por causar intoxicaciones que pueden provocar la muerte (7).

Según su composición química y, sobre todo por su estructura molecular, se pueden dividir en numerosos grupos: fenilaminas, alcaloides isoquinoleicos, alcaloides quinoleicos, alcaloides piridínicos y piperidícos, alcaloides derivados del tropano y alcaloides esteroides (8).

b. Principios amargos

Este término se refiere a todas aquellas especies cuya base de acción se basa de manera exclusiva en la presencia de los llamados “principios amargos”, los cuales excitan las células del gusto, estimulan el apetito, aumentan intensamente la secreción de jugos gástricos y desarrollan, además, una acción tónica general (8).

Bajo el nombre de principios amargos se agrupan todas aquellas sustancias vegetales terpénicas susceptibles de liberar camazuleno, así como glucósidos diversas estructuras bioquímicas (8).

c. Lípidos

Los lípidos son sustancias naturales, ésteres de ácidos grasos y de un alcohol o de un poliol. Son constituyentes de estructuras celulares como los fosfo- y glicolípidos de membranas, elementos de revestimiento como ceras o cutinas, también constituyen sustancias de reserva, fuente de energía celular; están ampliamente distribuidos y se hallan, tanto en estructuras vegetativas, como reproductoras. Los lípidos son sustancias hidrófobas y a veces anfífilas, solubles en los disolventes orgánicos apolares o poco polares, no volátiles: se habla de fijo, en contraposición a aceites esenciales. Con frecuencia se encuentran en semillas, donde reemplazan a los carbohidratos como material de reserva nutritiva y no es infrecuente que estén asociados con reservas de proteínas. Los aceites grasos se utilizan normalmente para la fabricación de remedios y con fines alimentarios e industriales (8,9,10).

d. Resinas

Estas sustancias pueden hallarse asociadas con aceites esenciales o gomas, o bien formando masas irregulares, con solubilidad en alcohol e insolubilidad en agua. Las resinas, oleorresinas y gomorresinas suelen agregarse a cavidades o conductos secretores. Algunas poseen diversas propiedades medicinales como antiespasmódicas, antisépticas del aparato urinario, antireumáticas y rubefacientes, purgantes y uso externo contra las verrugas (3,10).

e. Aceites esenciales

Los aceites son concentrados aceitosos que se extraen de las hojas, flores, semillas, corteza, raíces o frutos de diversas plantas; generalmente estos se evaporan al contacto con el aire, por lo que también reciben el nombre de aceites volátiles. Estos

están conformados por una mezcla de sustancias volátiles donde destacan los compuestos terpénicos, aromáticos derivados del fenilpropano, ácidos orgánicos, cetonas y cumarinas volátiles (7,11).

En general los aceites esenciales se obtienen a través del mecanismo de extracción en corriente de vapor o por expresión del material vegetal, mientras que en otras ocasiones, como sucede con las coníferas, oxidan ellas mismas sus esencias dando lugar a las llamadas resinas. A temperatura normal se caracterizan por ser incoloros o amarillentos (salvo el de la manzanilla que es azulado por la presencia de camazulenos), insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos apolares o en alcohol de alta graduación, lipófilos y con un índice de refracción elevado. Los aceites son altamente concentrados y literalmente representan la vida de la planta, la energía esencial de la planta (12).

- i. Clasificación: generalmente son mezclas complejas hasta de cien componentes, entre los que podemos mencionar:
 - Compuestos alifáticos de bajo peso molecular (alcanos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres y ácidos).
 - Terpenos: están formados por unidades de isopreno, pudiendo ser monocíclicos, cíclicos y acíclicos. Los que carecen de oxígeno son hidrocarburos de tipo monoterpénicos o sesquiterpénicos.
 - Fenilpropanos: importantes como elementos predominantes de algunos aceites como el de anís, badiana, canela, clavo de olor, hinojo, etc. (12).

- ii. Cumplimiento de funciones en el vegetal

Debido a su agradable aroma, los aceites esenciales, provocan la atracción de agentes polinizadores; pueden actuar también como elementos de defensa frente al ataque de parásitos, animales herbívoros e insectos. Además desempeñan un papel importante en la adaptación del vegetal ante cuadros de escasez hídrica y forman

parte de las sustancias de reserva, como dador de hidrogeniones en los procesos de óxido-reducción (13).

Se localizan en los vegetales superiores, en especial en ciertas familias de angiospermas: apiáceas, asteráceas, coníferas, labiadas, magnoliáceas, mirtáceas, rutáceas, umbelíferas. Se les puede encontrar en diferentes partes de la planta: en las hojas (ajenjo, albahaca, eucalipto, hierbabuena, mejorana, menta, etc.), en las raíces (angélica, cúrcuma, jengibre, sándalo, sasafrás, valeriana, vetiver, etc.), en el pericarpio del fruto (cítricos como limón, mandarina, naranja, etc.) en las semillas (anís, cardamomo, hinojo, comino, etc.) en el tallo (canela, etc.) en las flores (lavanda, manzanilla, crisantemo, tomillo, rosa, etc.) y en los frutos (nuez moscada, perejil, pimienta, etc.) (14).

iii. Usos de los aceites esenciales

A los aceites esenciales que se obtienen de algunas plantas tanto cultivadas como silvestres, se les atribuye una enorme cantidad de usos. En 1998 la FAO estimó que existen alrededor de 3,000 aceites esenciales conocidos a nivel mundial, de los cuales aproximadamente el 10% tienen importancia comercial (11).

La mayoría de los aceites se utilizan en la producción de cosméticos, artesanías o productos de limpieza, también son utilizados como repelentes de insectos tanto para el hombre como para el ganado, en medicina se aplican en el tratamiento de una amplia diversidad de afecciones. Y en la actualidad se utilizan al realizar masajes, y como aromaterapia (11,15).

Las plantas medicinales que contienen aceites esenciales poseen propiedades curativas antiinflamatorias en las irritaciones cutáneas, como también propiedades expectorantes, diuréticas, antiespasmódicas y tónicas sobre estómago, intestino, bilis e hígado. También se conoce que las plantas medicinales con aceite esencial combaten a los agentes patógenos, bacterias y posiblemente a los virus (6).

f. Taninos

Son compuestos polifenólicos muy astringentes y de gusto amargo. Se dividen en hidrolizables y condensados. Industrialmente se han utilizado para curtir pieles, al eliminar el agua de las fibras musculares. La importancia de los taninos en el mundo vegetal es su capacidad para proteger a las plantas contra las heridas que sufren y el hecho de que las protegen de los ataques exteriores, bien porque resultan tóxicos para los microorganismos o herbívoros, o porque no son digeribles para estos últimos (12).

Los taninos cumplen la función cicatrizante y hemostática, ya que aceleran la curación de las heridas y ayudan a detener el proceso de sangrado. Son componentes vegetales que están en condiciones de ligar las proteínas de la piel y de la mucosa, y transformarlas en sustancias insolubles resistentes. Por su acción astringente, resultan eficaces en el tratamiento de la diarrea, contribuyendo a que el organismo pueda realizar deposiciones más secas. Se consideran antioxidantes por su capacidad para eliminar los radicales libres, previniendo la aparición de numerosas enfermedades degenerativas, entre ellas el cáncer. Así mismo, la función antibacteriana de los taninos se produce fundamentalmente al privar a los microorganismos del medio apropiado para que puedan desarrollarse (12).

g. Glucósidos

Son sustancias orgánicas donde la función carbohidrato está formada de una o más moléculas de monosacáridos. Están formados por dos partes, la primera contiene un azúcar que mantiene un efecto favorable sobre la solubilidad del glucósido y su absorción, así como sobre su transporte de un órgano a otro; la segunda parte es la que determina el efecto terapéutico, denominada aglucón. En base a su composición química se distinguen varios grupos de glucósidos (8):

- i. Glucósidos cianogenéticos: son heterósidos de 2-hidroxinitrilos, que al hidrolizarse por la acción de enzimas, liberan un azúcar y ácido cianhídrico. Las enzimas se encuentran en compartimientos celulares diferentes a los

heterósidos cianogénéticos por lo que la hidrólisis se producirá al aplastar o romper la planta. Destacan en el laurel, cerezo, en las semillas de distintos árboles frutales, en las semillas de lino, en la hortensia (7).

- ii. Glucósidos bociógenos: también conocidos como heterósidos azufrados o glucosinolatos, mediante hidrólisis por enzimas específicos, presentes en la misma planta, liberan azúcares y geninas; estas últimas son empleadas en fitoterapia por su acción irritante sobre las mucosas. Estos glucósidos son característicos de las crucíferas considerándose tóxicas para el ganado de granja (7).
- iii. Glucósidos cardíacos: poseen actividad cardiotónica, razón por la cual son indicados en insuficiencia cardíaca congestiva y taquicardias. Debe evitarse su uso por posible acumulación en el músculo cardíaco e incremento de la contractibilidad del mismo, con aparición de taquicardia y problemas gastrointestinales (7).
- iv. Glucósidos sulfurados o tioglucósidos: contienen sustancias azufradas ligadas orgánicamente. Estas son liberadas gracias a la enzima mirrosina; descomponiéndose en glucosa e isosulfocianatos o senevoles. En fitoterapia estos metabolitos son muy activos e importantes por sus propiedades antibióticas, coleréticas y colagogas, balsámicas, rubefacientes y antirreumáticas (8,10).
- v. Glucósidos antocianínicos: también llamados antocianinas, son los pigmentos que comunican determinados colores a las flores, frutos y raíces. Medicinalmente poseen acción antiséptica, antiinflamatoria y protectora del cabello (16).
- vi. Glucósidos antraquinónicos: suelen ser pigmentos cristalinos que se componen de distintos azúcares, tal como la glucosa, ramnosa y arabinosa. Desarrollan una acción laxante horas después de su absorción, mediante la estimulación de

los movimientos peristálticos del intestino, y una inhibición de la absorción de agua por el organismo, por lo que las heces progresan más fácilmente y resultan menos deshidratadas. Poseen también acción digestiva, colerética y colagoga, favoreciendo la digestión, así como la producción y evacuación de bilis (8,16).

- vii. Glucósidos fenólicos: poseen efectos, y a menudo aromas, muy característicos, razón por la que han sido clasificados muchas veces como sustancias aromáticas. Medicinalmente, liberan hidroquinona, una sustancia altamente eficaz como antiséptico y antiinflamatorio del aparato urinario (8,16).

- viii. Glucósidos cumarínicos: compuestos formados por la fusión de pirona y benceno, a menudo también llamados glucósidos lactónicos. Medicinalmente poseen propiedades antiespasmódicas, antibióticas, tónicovenenosas y anticoagulantes (16).

- ix. Flavonoides: la mayoría son hidrosolubles, responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas. Si no son directamente visibles, contribuyen a la coloración por su papel de copigmentos, como ocurre con las flavonas y flavonoles incoloros que copigmentan y protegen a los antocianósidos. En algunos casos, la zona de absorción de la molécula se sitúa en el ultravioleta próximo, la coloración se percibe únicamente por los insectos que se sienten atraídos y guiados hacia el néctar y obligados por lo tanto a asegurar el transporte del polen que condiciona la supervivencia de la especie vegetal; se encuentran también en la cutícula foliar y en las células epidérmicas de las hojas, asegurando así la protección de los tejidos contra los efectos nocivos de las radiaciones ultravioleta. Se les atribuyen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes. Biosintéticamente poseen un origen mixto a partir del ácido shikímico y de acetilcoenzima A vía malonilcoenzima A. Es un concepto global aplicado a distintas sustancias que tienen una misma composición química base. Sus propiedades físicas y químicas son variables por lo que no se puede dar una idea general sobre el efecto que causan. Sin

embargo, hay tres acciones características: acción sobre la rotura anormal de los capilares, acción en determinados trastornos cardíacos y circulatorios, y acción antiespasmódica en el tracto digestivo (9,17).

- x. Saponinas o saponósidos: una de las principales propiedades físicas es la reducción de la tensión superficial del agua, son muy espumantes, por lo cual son considerados buenos emulsivos. Tienen la propiedad de producir hemólisis de los glóbulos rojos, lo que puede explicar el efecto tóxico de algunas de ellas. Disminuyen la capacidad de absorción de los alimentos en el tubo digestivo, por lo que se han utilizado en regímenes de adelgazamiento. Muchas plantas con saponinas poseen también efecto diurético y se utiliza con frecuencia para las llamadas curas de depuración de la sangre. Son asimismo eficaces contra las impurezas cutáneas y las dolencias reumáticas. Muchas de estas especies curan los edemas y actúan como antiinflamatorias. Las saponinas influyen en las plantas medicinales de un modo decisivo sobre la resorción de otros principios activos vegetales, y es muy frecuente que pequeñas cantidades produzcan grandes resultados, sin embargo cuando se ingieren en cantidades superiores a las permitidas, resultan tóxicas produciendo daños en las mucosas digestivas que se manifiestan en vómitos, dolor de estómago, hemorragias, mareo, úlceras, etc. (6,12).

h. Glúcidos o carbohidratos

Son constituyente universales de los organismos vivos. Son compuestos orgánicos carbonílicos (aldehídicos o cetónicos) polihidroxilados. En los vegetales tienen la función de sostén, participando en la estructura del organismo (celulosa y otros polisacáridos de sostén), como reserva energética, bajo la forma de polímeros (almidón), como constituyentes de diversos metabolitos y como precursores de todos los demás metabolitos formados durante la fotosíntesis a partir de dióxido de carbono y agua. Los glúcidos más importantes son los azúcares, almidón, mucílagos, celulosa, pectina e inulina (9).

- i. Azúcares: son glúcidos simples, dulces y solubles en agua. Los más sencillos de todos son la glucosa y la fructosa. Medicinalmente tienen un efecto tonificante sobre el organismo y la glucosa es una importante fuente de energía para las células (18).
- ii. Almidón: es la principal sustancia de reserva de los vegetales, el almidón es una fuente energética indispensable para la alimentación del hombre y de numerosos animales. Está presente en todos los órganos vegetales y se concentra preferentemente en granos de cereales (avena, trigo, maíz, arroz, etc.) y en semillas de leguminosas, en frutos, órganos subterráneos e incluso en la médula como es el caso del sagú, preparado a partir de las estípites de una palmera. El uso principal de los almidones y de sus derivados en farmacia es el de ser coadyuvantes en la formulación de comprimidos: diluyentes, ligantes (engrudo), desintegrantes, antigrumos (7).
- iii. Mucílagos: sustancias que contienen hidratos de carbono, que se hinchan fuertemente con el agua y que proporcionan un líquido viscoso. El mucílago se distribuye en forma de una capa delgada sobre las mucosas y las protege contra las sustancias irritantes locales y actúa como atenuante en la excitación. Las inflamaciones, especialmente las que se producen en las mucosas, disminuyen rápidamente bajo ese efecto protector. El mucílago no es reabsorbido, por lo que su efecto es puramente local. Las plantas que los contienen alivian la tos cuando ésta es desencadenada por estados irritativos en la garganta y la epiglotis, además también actúan como purgantes ligeros (7).
- iv. Celulosa: polímero complejo encontrado en numerosas talofitas clorofílicas. Se encuentra mayoritariamente en numerosas plantas con fibras textiles, como el lino, y el cáñamo. Forma parte de las paredes celulares de los vegetales, medicinalmente facilita la progresión intestinal de las heces, evitando así el estreñimiento (9).

- v. Pectina: los polisacáridos pécticos son glicanogalacturonanas que se localizan principalmente en la laminilla media de la pared de las células vegetales de algunas plantas, donde se asocian a la celulosa y a las hemicelulosas por enlaces de naturaleza no precisada. Estos polímeros son sobre todo abundantes en frutos inmaduros, en principio son insolubles lo que asegura una cierta rigidez a los tejidos, seguidamente se degradan, durante la maduración, a azúcares y ácidos. El interés de las pectinas en farmacia se debe sobre todo a su hidrofilia: al absorber agua, constituyen una preparación espesante del contenido gástrico, regulador del tránsito; al fermentar con bastante rapidez, favorecen el crecimiento bacteriano, aumentando así el volumen fecal. Se utilizan tanto en el tratamiento sintomático de las regurgitaciones del lactante como en caso de diarreas. En dietética, la utilización regular de pectinas ha demostrado su eficacia en el control de la colesterolemia y la prevención de las enfermedades cardiovasculares (9).
- vi. Inulina: otra reserva de hidratos de carbono en las plantas es la inulina; polisacárido de la fructosa que se encuentra comúnmente en porcentajes variados en los alimentos, es contenida en más de 36,000 plantas de diferentes géneros como en la cebolla, en el ajo y en el plátano, sobre todo, en los rizomas de las dalias y en las alcachofas, de donde se obtiene. Es un ingrediente natural, no digerible, resistente a la hidrólisis del tracto gastrointestinal y tiene un bajo nivel calórico. La inulina es un prebiótico que se emplea en la preparación de varios alimentos para darles cuerpo, textura, consistencia, viscosidad y humedad, existen reportes controversiales en animales y humanos sobre la influencia que tiene la inulina sobre el perfil de lípidos, así mismo se desconocía su efecto sobre la sensibilidad a la insulina en individuos con obesidad y dislipidemia; fue hasta el 2003 que se realizó un estudio para evaluar este efecto, concluyéndose que la administración oral de inulina en los individuos con obesidad y dislipidemia disminuyó las concentraciones de colesterol total, LDL, VLDL y triglicéridos, sin modificar la sensibilidad a la insulina (19).

i. Ácidos Orgánicos

Estos ácidos están presentes en los frutos de algunas plantas, entre los principales se encuentran:

- i. Ácido cítrico, que se emplea en la industria como aditivo acidificante de bebidas y alimentos.
- ii. Ácido málico, utilizado en la fabricación de laxantes y fármacos para el sistema respiratorio.
- iii. Ácido tartárico, utilizado en la industria alimenticia; en bebidas efervescentes, además de usarse en tintorería, fotografía, barnices y en la elaboración de laxantes suaves.
- iv. Ácido salicílico, posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias, antipiréticas y antireumáticas.
- v. Ácido oxálico, forma sales minerales en conjunción con el calcio y potasio por lo que puede producir litiasis.
- vi. Ácido linoleico (ácido graso), se le atribuyen propiedades que contribuyen al bienestar del sistema nervioso.
- vii. Ácido oleico (ácido graso), reduce el nivel de colesterol en la sangre, por lo que se utiliza contra la hipercolesteremia (9).

C. Control de Calidad

1. Generalidades

El control de la calidad, es un proceso con técnicas utilizadas para vigilar la calidad de un producto en diferentes etapas de su producción, en el que se compara con las normas y se actúa sobre las diferencias (20).

En un buen control de calidad el producto que no cumpla las características mínimas para decir que es correcto, será eliminado; para esto se realizan inspecciones

o pruebas de muestreo donde se verifican que las características del producto sean óptimas. (20).

a. Especificaciones de Calidad

Las especificaciones de calidad constituyen un elemento básico en la calidad de los productos, ya que permiten fijar objetivos de calidad para el mismo, estas son establecidas por la industria o institución encargada, y recopiladas en un documento que describe las características de calidad del producto e indica los valores numéricos asignados a cada una, expresados en unidades de medida internacionales y los límites de variación aceptables o que se toleran. Estas características de calidad se refieren tanto al aspecto físico, como el aspecto funcional del producto. Si estas especificaciones se vuelven requisitos y normas para la producción, se asegura la reproducibilidad lote tras lote del producto (20,21).

b. Auditoria de calidad

La auditoría de calidad es una herramienta de gestión empleada para verificar y evaluar las actividades relacionadas con la calidad del producto en una organización.

Es un proceso sistemático, documentado y de verificación objetiva para obtener y evaluar que las actividades específicas, eventos, condiciones, sistemas gerenciales, de calidad cumplen con los criterios establecidos y la comunicación de los resultados de este proceso al cliente (21,22).

c. Validación

Según la norma ISO 8402, la validación es la confirmación por examen y aporte de evidencias objetivas de que los requisitos particulares para un uso específico previsto han sido satisfechos (23).

La supervisión analítica de un medicamento, o de ingredientes específicos dentro del medicamento, es necesaria para asegurar su seguridad y eficacia en todas partes de todas las fases de su duración. Idealmente esta supervisión debería ser realizada conforme a las especificaciones de calidad elaboradas y validadas durante el desarrollo del medicamento (22,24).

El objetivo principal de validación analítica es asegurar que un procedimiento seleccionado analítico dará los resultados reproductivos y confiables que son adecuados para el objetivo propuesto, podríamos decir que es la comprobación y la verificación de la efectividad y reproducibilidad de un proceso o de una operación. Se debe aplicar a los procesos productivos, a los métodos de control y análisis, a las herramientas, a los equipos con los cuales se realizan las actividades u operaciones y a los procedimientos empleados (22,24).

2. Calidad de Medicamentos

Entendemos como calidad a la propiedad o conjunto de propiedades inherentes a una cosa que permiten apreciarla como igual, mejor o peor que las restantes de su especie. En la actualidad se define a la calidad como el grado en el que un conjunto de características inherentes a un producto cumple con los requisitos (23,25)

La calidad de un medicamento está determinada esencialmente por el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura a través del proceso de fabricación y las características que el producto terminado posee. En los medicamentos la calidad es la base sobre la que reposan La Seguridad y la Eficacia de los mismos (21,26).

Entre las características de calidad de un medicamento terminado podemos mencionar: Identidad, Potencia, Concentración, Uniformidad, biodisponibilidad, Estabilidad (21).

3. Calidad de productos medicinales herbarios

La identificación de un vegetal es indispensable en todo trabajo químico al respecto. Para esto se le examina ordenadamente según sus características morfológicas más sobresalientes y, a medida que se va descendiendo en la escala de clasificación se observan detalles más minuciosos, pasando a caracteres microscópicos y fisiológicos, hasta llegar a la especie en que todos los miembros son prácticamente iguales, aunque si se estudian cuidadosamente, se verán pequeñas variantes que, de tomarse en cuenta, los subdividen aún más hasta llegar al individuo (1).

La calidad de los productos medicinales herbarios exige el cumplimiento, tanto de especificaciones de materia prima como de productos terminado, control de procesos de elaboración y cualificación de los fabricantes (7).

Los aspectos que pueden influir en la calidad de los productos medicinales herbarios son: identificación botánica (la correcta determinación del origen botánico de la especie), variabilidad del material vegetal (biodiversidad, quimiotipos, etc.), influencia en el proceso de recolección, secado, almacenamiento y proceso de extracción (26).

a. Botánica

La botánica es la rama de la biología que estudia la estructura, fisiología, reproducción, evolución, enfermedades, usos económicos y otras características de las plantas, incluyendo su clasificación, distribución y relaciones con otros seres vivos (3,27).

b. Farmacología

La farmacología puede definirse como el estudio de sustancias que interactúan con sistemas vivientes por medio de procesos químicos, en especial por unión a moléculas reguladores y activación o inhibición de procesos corporales normales. Estas sustancias

pueden ser administradas para alcanzar un efecto terapéutico benéfico sobre algún proceso en el paciente, o por sus efectos tóxicos sobre procesos regulatorios en parásitos que infestan al paciente (28).

c. Farmacognosia

El término farmacognosia (derivado del griego *pharmakon*, drogo, y *gignosco*, adquirir el conocimiento de algo) no fue introducido hasta 1815. Pese a que la farmacognosia se refiere, principalmente, a las sustancias de origen natural que poseen una virtud medicinal, no está totalmente limitada a tales sustancias. Así, son también objeto de estudio de la Farmacognosia, los tejidos de uso quirúrgico, preparados a partir de fibras naturales, los agentes aromatizantes y de suspensión, los desintegrantes, los medios de filtración y de soporte. Otros aspectos estrechamente ligados a la farmacognosia son las plantas venenosas y alucinógenas, las materias primas para producción de anticonceptivos orales, alérgenos, herbicidas e insecticidas (10).

La Farmacognosia está estrechamente relacionada tanto con la botánica como con la química vegetal y su historia permite considerarla como precursora de ambas. Hasta el comienzo del siglo actual, la farmacognosia se había desarrollado principalmente en su aspecto botánico, refiriéndose particularmente a la descripción e identificación de las drogas, tanto enteras como pulverizadas así como a su historia, comercio, recolección, preparación y almacenamiento. Estas ramas de la farmacognosia son, por supuesto, de fundamental importancia, pero el rápido desarrollo de otros campos ha ensanchado enormemente su alcance. Además, la dilucidación de las estructuras de los principios de las drogas más importantes y la aclaración de su biogénesis en las plantas ha aportado nuevos fundamentos fitoquímicos para la consideración del tema (10).

d. Farmacobotánica

Es la rama de la farmacología, que comprende la citología, histología, morfología, anatomía, fisiología y taxonomía vegetal; tiene como base medular la farmacología y la botánica. Además estudia a las plantas como elementos productores de metabolitos secundarios de reconocido valor terapéutico (3).

4. Control de Calidad de la materia prima

Los productos fitoterapéuticos son obtenidos a partir de plantas cultivadas o silvestres, por tal motivo las posibilidades de contaminación son altas. Un apropiado proceso de recolección, cultivo, cosecha, secado, corte y almacenamiento es esencial para garantizar la calidad de los mismos, pues es el material vegetal, el que en definitiva define la potencia y calidad del producto final. La baja calidad del material vegetal o su inconsistencia hará imposible cualquier control de calidad significativo durante el proceso de elaboración de los productos fitoterapéuticos, o será imposible asegurar la calidad uniforme del producto final (21,26).

La materia vegetal de las plantas medicinales es clasificada según características sensoriales, macroscópicas y microscópicas. Un examen para determinar estas características es el primer paso hacia el establecimiento de la identidad y el grado de pureza de tales materiales y debería ser realizado antes de que se realicen otras pruebas (29).

Según la farmacopea Europea los parámetros de calidad para drogas vegetales y derivados son los siguientes: identidad, características macro y microscópicas, características organolépticas, perfil cromatográfico, reacciones de identificación, pureza, humedad, cenizas, constantes físicas, materia extraña, disolventes residuales, contaminación microbiana, metales pesados, residuos de pesticidas, aflatoxinas, radioactividad, adulteraciones, valoración, y contenido de principios activos o marcadores (18).

a. Pruebas de Identidad

Para poder evaluar la materia prima se debe de extraer una muestra para su posterior análisis, por lo tanto se le debe poner un cuidado considerable, para tener la seguridad de que la muestra es verdaderamente representativa.

i. Microscopía

El estudio microscópico de una droga vegetal, exige siempre la elaboración de cortes del material en estudio, que pueden ser hechos a mano libre o con un micrótopo (26).

ii. Técnicas químicas

Entre los procesos químicos se pueden mencionar las técnicas de coloración y las pruebas histoquímicas, a continuación se describen algunas de ellas:

- Coloración con safranina

En esta coloración, las partes lignificadas y la cutícula se tiñen de color rojo intenso y las paredes celulósicas toman color rosado (26).

- Coloración con safranina fast green

En este tipo de coloración, los tejidos con paredes lignificadas se tiñen de color rojo intenso y los de paredes celulósicas de color celeste verdoso (26).

- Pruebas histoquímicas

Las pruebas histoquímicas se pueden realizar tanto con material fresco como de herbario y aún conservado, siendo preferible su uso al estado fresco, asimismo la muestra puede trabajarse al estado de polvo o en secciones (26).

Estas pruebas muestran, la presencia o la ausencia de: alcaloides, aleuronas, almidón, carbonato de calcio, celulosa, grasas, aceites, aceites volátiles, resinas, inulina, lignina, mucilagos, oxalato de calcio, pectato y sustancia pecticas, saponinas y taninos (26).

b. Tamizaje Fitoquímico

El tamizaje fitoquímico determina cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta; es una de las etapas iniciales de investigación fitoquímica, y consiste en la extracción de la planta con disolventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y análisis por cromatografía en capa fina (3).

i. Cromatografía en capa fina

Consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. Una solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (sílica, alumina, etc) distribuido sobre una placa de vidrio o aluminio. La placa se coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluyente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El eluyente migra por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla. Después que ha ocurrido, se evapora el eluyente y la placa se analiza utilizando luz ultravioleta o luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla analizada (30).

c. Pruebas de pureza

i. Materias extrañas

Es muy difícil obtener drogas vegetales en condiciones de completa pureza, las farmacopeas contienen especificaciones referentes a porcentajes permitidos de otras partes de la planta o de otras materias orgánicas. No obstante, la materia prima que contiene cantidades apreciables de materia orgánica extraña, excrementos de animales, insectos o mohos, debe rechazarse aunque el porcentaje de estas sustancias sea insuficiente para determinar la eliminación de la droga respecto del contenido de materias extrañas. (21,31).

ii. Contenido de humedad

La medida del contenido de humedad en la materia vegetal es de suma importancia, ya que a determinada temperatura, ésta puede provocar la activación de enzimas y crear condiciones favorables para la proliferación de microorganismos, deteriorando rápidamente la materia vegetal (21,31).

iii. Determinación de cenizas

Se determina el contenido total de cenizas presentes en la materia prima, este valor es el residuo que queda después de incinerarla, y representa a las sales inorgánicas que normalmente contiene la droga y las que lleva adheridas, también representa la materia inorgánica adherida como adulterante, así como fertilizantes o trazas de los mismos que la droga contenga. (21,31).

D. Descripción Botánica y Morfología Vegetal

1. Descripción de características micromorfológicas

El estudio microscópico de una droga vegetal, se realiza por medio de la elaboración de cortes del material en estudio. Estos cortes pueden ser hechos a mano libre o con un micrótopo. Existen otras técnicas como las mediciones microscópicas o micrometría, donde se utiliza un ocular micrométrico y un micrómetro objetivo, además del microscopio, el diafanizado o decoloración, coloraciones o tinciones, métodos de disociado y pruebas histoquímicas, lo cual nos permite observar las características micromorfológicas para la correcta identificación del material vegetal (26).

Los tejidos de las plantas se pueden dividir en dos: tejidos permanentes simples y tejidos permanentes complejos (3).

a. Tejidos Permanentes Simples

A los tejidos permanentes simples fundamentales se les conoce como tejidos fundamentales, y se distinguen tres tipos: parénquima, colénquima y esclerénquima. Se dice que estos tejidos son simples ya que consisten en un solo tipo de células, a diferencia de los tejidos complejos que pueden poseer dos o más tipos de células (3).

i. Parénquima

Es un tejido formado por una gran variedad de células con paredes primarias celulósicas que están ampliamente distribuidas en todo el cuerpo de la planta (3).

ii. Colénquima

Es un tejido mecánico de resistencia o de sostén que está constituido por células vivas de variadas formas. Se halla de preferencia en los órganos en crecimiento:

corteza, peciolo jóvenes, o bien en la región periférica de muchos tallos herbáceos de la clase Magnoliopsida y nervaduras de hojas (3).

iii. Esclerenquima

Es un tejido de resistencia que ejerce ante todo una función de soporte. Se origina también del parénquima por un engrosamiento de sus membranas celulares por lignificación o mineralización de las mismas, que inicialmente eran celulósicas (3).

b. Tejidos Permanentes Complejos

Compuesto por los tejidos dérmico y vascular, estos están formados por dos o más tipos de células (3).

i. Tejido Dérmico

Está compuesto por dos tipos de tejidos: la epidermis que está presente en órganos vegetales con crecimiento primario y la peridermis que está presente en órganos vegetales con crecimiento secundario (3).

- Epidermis: tejido que cubre la planta durante el crecimiento primario y se encuentra en contacto directo con el ambiente. La epidermis está compuesta por células epidérmicas normales, células del complejo estomático y tricomas. Algunas pueden presentar otro tipo de células epidérmicas como células buliformes (enrollamiento de hojas), silíceas, células del corcho o súber o ideoblastos (3).
- Peridermis: es el tejido secundario de protección. Sustituye a la epidermis y está presente en tallos y raíces de árboles y arbustos (3).

ii. Tejido Vascular

Comprende el sistema de transporte de la planta, el cual está compuesto por: el xilema y el floema (3).

- Xilema: es un tejido complejo, compuesto de elementos traqueales, fibras de esclerenquima y parénquima, y moviliza agua y minerales (3).
- Floema: constituye un sistema de transporte intercelular que moviliza carbohidratos, ARN y otras sustancias hacia las zonas de crecimiento y diferenciación (3).

E. Material Vegetal de Estudio

1. Nombre científico

Ocimum micranthum Willd.

2. Sinonimias

Ocimum americanum L., *O. canum* Sims, *O. campechianum* Mill (32).

3. Nombres comunes:

Albaac (Petén, Maya), albahaca, albahaca cimarrona, albahaca de gallina, albahaca de monte, albahaca silvestre, albajoque, Barsley, baisley (Belice), cacaltún (Yucatán), guinocuana, hierba del toro (Huehuetenango), kajaltun, xkakalun (33,34).

4. Descripción taxonómica

- a. Clase: Magnolipsidia
- b. Orden: Lamiales
- c. Familia: Lamiaceae
- d. Género: *Ocimum*
- e. Especie: *Ocimum micranthum* (33,34).

5. Historia

En 1891 Ernst señaló la especie nativa, albahaca de monte: *O. micranthum* Willd. como planta medicinal. En 1959, Velez Salas la estudia desde el punto de vista botánico y medicinal. En la actualidad, es una planta utilizada en la agricultura guatemalteca por sus virtudes medicinales y culinarios conocidos desde hace algunos años (33,35).

6. Descripción botánica

Hierba erecta anual, usualmente 50 cm de altura o menos, tallos puberulentos o glabros; hojas delgadas, finas-peteoladas, aserradas, ampliamente ovaladas a oblonga-ovaladas, 2-7 cm de largo, agudas, redondeadas, agudas en la base, casi glabras, densa y finamente glandular, pálidas al envés. Inflorescencia con numerosos verticilios florales, separados, en alargada panícula racemosa, pedicelos 4-7 mm de largo, recurvados; cáliz de 7-8 mm de largo, verde, puberulento o glabro, labio superior amplio, cóncavo, el más bajo de 4 lóbulos angostos, corola blanca, aproximadamente 4 mm de largo, filamentos desnudos, de 1 mm de largo (32).

7. Hábitat y distribución

Es nativa de América tropical, es decir de Centro América y del Caribe, encontrada en matorrales secos o húmedos, o en sembrados; a menudo en laderas rocosas o en las orillas a lo largo de corrientes, crece desde México hasta Perú y Brasil. Es de crecimiento silvestre en regiones de clima cálido y húmedo, muy raras veces en lugares frescos. En Guatemala se ha descrito particularmente en Alta Verapaz, Izabal, Petén y Suchitepéquez, aunque también se localiza en los departamentos de Chiquimula, El Progreso, Huehuetenango, Jalapa, Jutiapa, Santa Rosa y Zacapa, probablemente en los departamentos de las tierras bajas. (32,34,36).

8. Obtención

Se obtiene por recolección en las regiones de crecimiento silvestre. Se han iniciado actividades de domesticación y cultivo para garantizar su disponibilidad. Se multiplica por esquejes y semillas. Los esquejes se enraízan en suelo cernido y se trasplanta a filas de 40cm. Las semillas germinan bien en sus lugares de crecimiento silvestre y se desarrollan mejor que los esquejes, estas pueden germinar en semillero o directamente en el suelo, las primeras se trasplantan a filas de 30 cm. Las hojas se colectan en el momento de máxima floración y se secan a la sombra (32,33).

9. Usos y propiedades medicinales

O. micranthum es silvestre y se utiliza en forma similar a *O. basilicum* que es cultivada, de acuerdo al acceso que la población tenga de cada una de ellas. La infusión se usa oralmente para tratar afecciones gastrointestinales (diarrea, disentería, gastralgia, parasitismo), respiratorias (bronquitis, catarro, fiebre, resfrío, tos) y nerviosas, dolor de oído y cabeza, halitosis, vértigo, infección renal y reumatismo (32,33).

Tópicamente se usa en baños, cataplasmas para tratar afecciones dérmicas (llagas, pólipos, úlceras, verrugas), tumores y parásitos del ganado; la tintura se usa para hacer fricciones en gota y reumatismo; la hoja fresca machacada se aplica para eliminar miasis nasal del género *Lucilia*; el polvo de hojas secas se aspira para congestión nasal y el jugo de hojas frescas para lavado de ojos. El cocimiento de la raíz se usa para tratar malaria; la corteza es cianogenética y se usa en problemas digestivos (cólera). Las semillas son mucilaginosas, diuréticas y nutritivas, por vía oral se usa para tratar afecciones digestivas y tópicamente para tratar llagas y úlceras. Se le atribuye propiedad antiséptica, aromática, astringente, calmante, carminativa, colagoga, diurética, emenagoga, espasmolítica, estomáquica, estornutatoria, febrífuga, galactagoga, rubefaciente, sudorífica y vermífuga (33).

Las hojas frescas y secas se usan para sazonar comidas y ensaladas. El olor de las hojas frescas es repelente para larvas de insectos y mosquitos, razón por la que se cuelgan ramas frescas en las viviendas; tiene uso aromático, ornamental y cosmético. Por su actividad aperitiva, digestiva y espasmolítica está indicada por vía oral en el tratamiento de inapetencia, digestiones lentas, meteorismo, espasmo gastrointestinal, vómitos, dolor de estómago, tos convulsiva y jaqueca. Para la aplicación tópica están indicadas las lociones, esencias y el polvo en el tratamiento de heridas, eczema y dolores musculares, es importante también mencionar que se le atribuyen diferentes usos médicos, dependientemente del país del que se esté hablando (33,37,38).

10. Farmacología experimental y clínica

El extracto acuoso de las hojas es activo contra *Staphylococcus aureus* y produce bradicardia en ratas y gatos (10-20 mg/kg). El extracto diclorometánico es antibacteriano, antifúngico (*Microsporum gypseum* y *Trichophyton mentagrophytes*) y antioxidante. El extracto etanólico no tiene actividad diurética medida por cateterización de la vejiga de ratas, no es antihipertensivo ni aumenta la frecuencia cardíaca en ratas espontáneamente hipertensas. El extracto etanólico es activo común contra *Culex quinquefasciatus* (100 ppm) (33).

El aceite esencial es activo contra patógenos humanos como bacterias (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*) y hongos (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Microsporum canis*, *M. gypseum*, *Mycobacterium tuberculosis*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*), hongos fitopatógenos (*Diplodia natalensis*, *Lenzites trabea*, *Penicillium digitatum*, *Polyporus versicolor*), insectos (*Aphis gossypii*, *Callosobruchus chinensis*, *Dysdercus cingulatus*, *Lenzites trabea*, *Oncopeltus fasciatus*, *Polyporus versicolor*, *Sitophilus oryza*, *Stegobium paniceum*, *Tetranuchus cinnabarinus*, *Triboilum castaneum*) y larvas (*Culex fatigans*). Además de ser espermatocida y relajante del músculo liso (tráquea de cobayo DE₅₀ 19mg/l; tráquea de cerdo DE₅₀ 32mg/l); ha demostrado un efecto analgésico sin participación del sistema opioide, pero si del óxido nítrico (33).

11. Estudios realizados

En 1941 Peckolt realizó una destilación del aceite esencial de las hojas de *O. micranthum* procedente del Brasil, reportando un rendimiento del 0.14 por ciento y una densidad a 23°C de 0.982. En 1981 se informa sobre las propiedades y efectos de *O. micranthum*, mencionando el uso del aceite esencial como repelente de mosquito. En 1990 es publicado un artículo respecto a los constituyentes del aceite esencial de esta especie (39,40,41).

En el 2001 se confirma que los componentes mayoritarios de aceite esencial de las hojas de *O. micranthum* cultivadas en Guatemala son eugenol (26.6206%), 1,8-cineol (12.1061%), α -terpineol (7.1054%), β -cariofileno (6.4555%) y linalool (2.6533 %). El aceite de *O. micranthum* procedente de Chiguaxte, Samayac, Suchitepéquez en Guatemala, presenta mayor cantidad de eugenol comparado con otras especies. Donde los metabolitos secundarios presentes en las hojas de la misma son: antraquinonas, saponinas, cardenólidos, flavonoides y aceite esencial (42).

En el 2006 Morataya realizó un estudio para caracterizar y estandarizar extractos, tinturas y aceites esenciales de *O. micranthum* y otras tres plantas aromáticas nativas de Guatemala, procedentes de Samayac, Suchitepequez, encontrándose que el mejor disolvente para la preparación de tinturas y extractos de albahaca es el etanol al 35%, recomendando como producto intermedio el extracto 4:1 y obteniendo un porcentaje de aceite esencial de 0.9876%, identificando en el mismo eucaliptol, linalool y α -terpineol (43).

12. Composición química y principios activos

Contiene triterpenos y aceite esencial, el cual está presente en toda la planta, contiene más de 20 compuestos, aunque hay gran variabilidad por sus quemo tipos, los componentes mayoritarios son: en las hojas, eugenol (20-40%), metilcinamato (34-56%), 1-8 cineol (20-62%), β -cariofileno (19-78%), γ -elemeno (16%); en las flores, γ -elemeno (41%), β -cariofileno (19%), β -selineno; en los tallos, γ -elemeno (32%), β -

cariofileno (20%), β -selineno (11%) y 1,8-cineol (10%), además de contener alcaloides en sus hojas. El eugenol, aceite con olor a especie (clavo), presenta actividad antibacteriana y anticáncida, ampliamente usado como aroma, saborizante y especialmente como analgésico y antiséptico en odontología (44).

La actividad biológica se atribuye principalmente a su aceite esencial, que le confiere propiedad aromática, antiséptica, antiinflamatoria, analgésica, digestiva, carminativa, espasmolítica, insecticida y sedante; la actividad tónica se atribuye al alcanfor que tiene propiedad cardíaca y es un analéptico respiratorio; así también su actividad insecticida se explica en parte por la presencia del jovicimeno que tienen una actividad que mimifica en forma dosis-dependiente la metamorfosis de *Oncopeltus fasciatus* (32).

13. Toxicología

Los extractos acuosos y etanólicos fueron inocuos en peces del género *Mollinesia*. El jugo de la hoja puede ser ligeramente narcótico, algunos de sus compuestos como safrol y estragol pueden ser cancerígenos. La DL_{50} del estragol en ratas por vía oral es 1,820 mg/Kg, en ratones es 1,250 mg/Kg; la DL_{50} del eugenol en ratas por vía oral es 2,680 mg/Kg, en ratones es de 3,000 mg/Kg (33,45).

El aceite volátil de la planta inhibe el movimiento de la musculatura intestinal y uterina (33).

14. Indicaciones terapéuticas

No se encuentra en ninguna farmacopea, sin embargo debido a su uso tradicional como condimento y su falta de toxicidad demostrada, se considera de uso seguro.

Como digestiva y analgésica, está indicado su uso por vía oral en el tratamiento de inapetencia, digestión lenta, meteorismo, espasmo gastrointestinal, vómitos, dolor de estómago, tos convulsiva y jaqueca. La aplicación tópica se usa en el tratamiento de heridas, eczema y como vermífugo (32).

IV. JUSTIFICACIÓN

En Guatemala ha ido incrementándose cada vez más el uso de las plantas medicinales y aromáticas en la producción de fitofármacos a base de aquellas que han demostrado cierta actividad farmacológica.

La albahaca es una especie muy conocida por sus propiedades medicinales y culinarias, pues es utilizada en el tratamiento de afecciones gastrointestinales, respiratorias y nerviosas, así como en la preparación de comidas. Se comercializan en el mercado nacional dos especies, *Ocimum basilicum* (albahaca morada) y *Ocimum micranthum* (albahaca de monte), siendo esta última nativa de América tropical, que crece en forma silvestre en varias regiones del país. Tomando en consideración la importancia de establecer el control de calidad de plantas medicinales y aromáticas autóctonas como la albahaca de monte, *O. micranthum*, cuando ésta se encuentra seca y fragmentada, o en forma silvestre, así como la ausencia de información de las características micromorfológicas e histológicas de dicha especie, se propone este estudio que permitirá describir y documentar las características anatomorfológicas y fitohistológicas así como otros caracteres de identidad y pureza, necesarios para la correcta identificación de la especie nativa, *Ocimum micranthum* que garantice que todos los estudios posteriores, sean hechos con la especie correcta.

Teniendo en cuenta que la ubicación geográfica y los cambios de altitud pueden interferir en la producción de metabolitos secundarios y en la morfoanatomía vegetal, el estudio fue realizado en tres poblaciones de la misma especie, ubicadas en diferentes altitudes.

La información recabada contribuirá a la elaboración de una monografía de control de calidad, y así establecer los estándares mínimos que debe cumplir la materia medica de *O. micranthum* para ser utilizada con fines medicinales y de investigación.

V. OBJETIVOS

A. General

Describir los caracteres farmacobotánicos de la especie medicinal y culinaria *Ocimum micranthum*.

B. Específicos

1. Proponer una descripción diagnóstica para la correcta identificación botánica de *Ocimum micranthum*.
2. Establecer características histológicas mínimas que permitan la correcta identificación del material fresco y seco de *Ocimum micranthum*.
3. Determinar la ubicación histológica de los metabolitos secundarios por medio de métodos histoquímicos.
4. Demostrar la presencia de metabolitos secundarios del extracto metanólico de las tres poblaciones de *Ocimum micranthum* por cromatografía en capa fina.
5. Establecer el porcentaje de humedad y cenizas de tres poblaciones diferentes de *Ocimum micranthum*.

VI. HIPÓTESIS

No se planteó hipótesis debido a que es un estudio de caracterización de la especie *Ocimum micranthum*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo de trabajo

Albahaca cultivada en las regiones: norte, nororiente y suroccidente de Guatemala.

B. Muestra

Ocimum micranthum cultivada en Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz; Livingston, Izabal y Mazatenango, Suchitepéquez, regiones con distintas altitudes entre sí.

C. Recursos

1. Humanos

- a. Estudiantes: Br. Mirna Amabel Castillo García; Br. Mercy Josefina Pérez Rodríguez.
- b. Asesora: Licda. María Eugenia Paredes.

2. Institucionales

- a. Departamento de Citohistología, Escuela de Química Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- b. Laboratorio de ecología, Facultad de Agronomía, Universidad de San Carlos de Guatemala.
- c. Secadores de herbario de la Escuela de Biología (BIGU), Universidad de San Carlos de Guatemala.
- d. Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), Universidad de San Carlos de Guatemala.
- e. Biblioteca de Laboratorio FARMAYA.

3. Físicos

a. Materiales

- Tijeras de podar
- Machete
- Etiquetas
- Libreta de campo
- Bolsas de plástico
- Lápiz
- Prensa de campo
- Papel periódico
- Marcador indeleble
- Cartulina
- Cartón corrugado
- Papel secante
- Fólderes
- Papel kraft
- Goma
- Duroport
- Hoja de afeitar
- Vidrio de reloj
- Pincel
- Lupa
- Beakers
- Caja de petri
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tubo de ensayo
- Papel filtro
- Algodón

- Erlenmeyer
- Silicone
- Pipetas pasteur
- Probeta
- Balón de 125 mL
- Viales color ámbar
- Placa de silicagel 60 F₂₅₄
- Platos desechables
- Agitador magnético
- Cucharilla
- Varilla de vidrio
- Agua de chorro

b. Equipo

- Microscopio estereoscopio
- Estufa eléctrica
- Baño María
- Percolador
- Rotavapor
- Balanza semianalítica
- Desecadora
- Balón de destilación
- Destilador Neoclevenger
- Refrigerador
- Analizador (Balanza) de humedad.

c. Reactivos

- Alcohol al 70%
- Alcohol al 96%

- Hidróxido de potasio al 5%
- Gelatina-glicerina
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hipoclorito de sodio al 50%
- Hidrato de cloral (5:2)
- Safranina al 1%
- Safranina fast green
- Bálsamo de Canadá
- Alcohol al 80%
- Alcohol al 100%
- Xilol
- Hidróxido de potasio al 10%
- Ácido crómico al 25%
- Reactivo de dragendorff
- Lugol
- Reactivo de sudan III o sudan IV
- Azul de cresil al 1%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato férrico
- Metanol
- Hidróxido de amonio al 10%
- Solución de atropina y papaverina al 1% (en metanol)
- Tolueno
- Acetato de etilo
- Dietilamina
- Agua destilada
- Cloroformo
- Acetona
- Amonio concentrado
- Etanol al 70%
- Estándar de saponinas

- n-butanol
- Ácido acético
- Diclorometano
- Xileno
- Timol
- Anisaldehído
- Anetol
- 1,8-cineol
- Acetato
- Ácido sulfúrico
- Vanillina
- Solución de flavonoides al 0.05% (en metanol)
- Ácido fórmico
- Ácido acético glacial
- n-butanol
- Etilmetilcetona
- Difenilboriloxietilamina
- Polietilenglicol

D. Métodos

1. Pruebas de identidad

a. Características macroscópicas y descripción botánica

i. Determinación de los requisitos macromorfológicos

Se revisó a simple vista todos los caracteres que permitieron una correcta identificación de la materia fresca y seca.

ii. Descripción botánica

Se elaboró una descripción botánica en base a obras florísticas y monografías, que permitieron una clara identificación de la planta en estudio.

iii. Herborización de ejemplares frescos

- Colecta y secado de muestras

Se recolectaron al menos cinco ejemplares de cada una de las tres regiones en estudio. Una vez colectados, dos ejemplares se colocaron en medio de dos hojas de papel periódico y este dentro de cartón corrugado formando una pila de muestras. Esta pila de muestras se colocó en una prensa de madera, la cual se guardó en la secadora del Herbario Biología Guatemala (BIGU) durante 24 horas.

- Montaje de muestras y etiquetas.

Se colocó cada muestra seca en una hoja de cartulina blanca junto con una etiqueta de identificación que contenía una breve descripción botánica y otros requerimientos establecidos por el Herbario Biología Guatemala (BIGU).

2. Caracteres micromorfológicos e histológicos

Para obtener información micromorfológica e histológica de materia vegetal fresca, se utilizaron las siguientes técnicas:

a. Corte a mano alzada

- i. Se colocó un trozo de hoja o tallo entre dos trozos de duroport.
- ii. Se sostuvo fuertemente con una mano el material a cortar ya acondicionado y con la otra mano se deslizó de manera perpendicular una hoja de afeitar en buenas condiciones.

- iii. Se recibieron los cortes obtenidos en un vidrio de reloj con agua destilada.
- iv. Se seleccionaron los cortes más delgados y parejos.
- v. Estos fueron teñidos con safranina o se utilizaron para el tamizaje fitoquímico y luego fijados con gelatina-glicerina.
- vi. Se observaron al microscopio con aumentos de 100X y 400X. Los resultados fueron anotados y fotografiados (Anexo 1).

b. Técnica de diafanizado (Decoloración)

- i. Se colocaron hojas de la especie vegetal en estudio, *O. micranthum*, en un vaso de precipitado con alcohol al 96°, se llevó a ebullición durante 30 minutos aproximadamente, hasta que ya no se observara coloración verde en la hoja.
- ii. Las hojas se pasaron a una solución de partes iguales de alcohol al 96°C e hidróxido de sodio al 5% y se llevó a ebullición por 10 minutos.
- iii. El material se lavó con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quedara totalmente limpia.
- iv. Luego se pasó a una caja de petri con una solución de hipoclorito de sodio al 50% hasta que las hojas quedaran blanco-transparentes.
- v. El material tratado se lavó con agua destilada varias veces hasta eliminar el hipoclorito de sodio.
- vi. Con mucho cuidado se trasladó a una caja de petri con safranina al 1% en agua y se dejó teñir por 5 minutos aproximadamente.
- vii. Estas hojas se trasladaron a un portaobjetos y se les agregó gelatina-glicerina.
- viii. Se cubrieron suavemente con un cubreobjeto procurando no originar burbujas.
- ix. Se observaron al microscopio con aumentos de 100X, 400X y 1000X. Los resultados se anotaron y fotografiaron (Anexo 2).

c. Coloración con safranina y fast green

- Se escogieron los cortes más delgados y se trasladaron a un vidrio de reloj con safranina o fast green al 1% en agua y se dejó colorear por 2-5 minutos.

- Estos cortes se trasladaron a otro vidrio de reloj con agua destilada y se colocó cada corte con ayuda de un pincel sobre el portaobjeto.
- Se agregó una gota de gelatina-glicerina y se cubrió suavemente con un cubreobjeto procurando no originar burbujas.
- Se observaron al microscopio con aumentos de 100X y 400X. Los resultados fueron anotados y fotografiados (Anexo 3).

d. Disociado débil de hoja y tallo

- i. Se colocó el material cortado finamente en una solución de hidróxido de sodio al 5%.
- ii. Se hirvió durante 5 minutos.
- iii. Se lavó con agua destilada hasta que el líquido quedó limpio.
- iv. Este material se trasladó a un vidrio de reloj con una solución de safranina al 1% en agua.
- v. Con ayuda de una aguja histológica se colocó una porción del material sobre el portaobjeto.
- vi. Se agregó gelatina-glicerina y se cubrió con un cubreobjeto.
- vii. Se observó al microscopio con aumentos de 100X y 400X. Los resultados fueron anotados y fotografiados (Anexo 4).

e. Elaboración de cartillas de identificación

Con base en los diferentes cortes transversales tanto de hoja como de tallo se elaboraron cartillas micrográficas. Estas cartillas nos muestran la información necesaria para su caracterización e identificación.

3. Tamizaje fitoquímico

a. Identificación microquímica

Las especies vegetales se caracterizan por la presencia de determinados compuestos químicos, tal como algunos metabolitos secundarios. La identificación microquímica se realizó utilizando cortes a mano libre, incluyendo la investigación de: alcaloides, almidón, grasas y aceites, mucílagos, saponinas y taninos en *O. micranthum* proveniente de cada una de las tres regiones en estudio.

- i. Alcaloides: los cortes se colocaron sobre el portaobjetos y se agregó una gota de reactivo de dragendorff. Se dejó actuar durante unos minutos y se observó al microscopio. La presencia de un precipitado rojo ladrillo se consideró positivo.
- ii. Almidón: se colocaron los cortes en el portaobjeto y se agregó una gota de lugol y se observó al microscopio. La presencia de gránulos color azul o azul-violáceo en el citoplasma de las células se consideró positivo.
- iii. Grasas y aceites: se colocaron cortes delgados en el portaobjeto, se agregó una gota de reactivo sudan IV, se dejó actuar por 10 minutos, se lavó con alcohol al 70° y se observó al microscopio. Una coloración roja o rosada se consideró positivo.
- iv. Mucílagos: se colocaron los cortes en un vidrio de reloj con azul de cresil al 1%, luego se trasladaron a un portaobjetos y se observó al microscopio. La presencia de una coloración azul Francia se consideró positivo.
- v. Saponinas: se colocaron los cortes sobre el portaobjeto, se agregó una gota de ácido sulfúrico concentrado y se observó al microscopio. La aparición de una coloración amarilla inmediatamente, que a los 30 minutos cambió a rojo y finalmente a azul verdoso o lila se consideró positiva.
- vi. Taninos: se colocaron los cortes sobre el portaobjetos, se agregó una gota de sulfato férrico, se dejó actuar 2-3 minutos y se observó al microscopio. La presencia de una coloración azul-verdosa se consideró positiva (Anexo 6).

b. Extractos botánicos

Para la obtención del extracto, se tamizó el material vegetal seco de *Ocimum micranthum* y se extrajo por percolación (Anexo 7) con el disolvente orgánico metanol. Seguidamente se concentró por medio de un rotavapor y luego se colocó en desecadora (Anexo 8). El extracto de *O. micranthum* de la materia vegetal proveniente de Mazatenango fue proporcionado por el departamento de Citohistología.

c. Cromatografía de capa fina

Se realizó una cromatografía en capa fina de los siguientes metabolitos: alcaloides, saponinas, aceites volátiles, flavonoides y antocianinas con los extractos del material vegetal de *Ocimum micranthum* de las diferentes localidades previamente obtenidos, colocando cada uno de estos en una cromatoplaque, donde se detectaron posteriormente por tratamiento químico y luz ultravioleta (Anexo 9).

4. Pruebas de pureza

a. Cenizas totales

Esta prueba se realizó sobre el material pulverizado y nos muestra el contenido de minerales que contiene el material en estudio.

- Se calentó un crisol por cada localidad durante 2 horas en una mufla a una temperatura de 625°C, posteriormente esta se apagó y se sacaron los crisoles de la misma al día siguiente.
- Se pesaron los crisoles y se identificaron.
- Se distribuyó 1-2 gramos del material en estudio sobre cada crisol.
- Se incineraron las muestras contenidas en los crisoles, durante 2 horas en la mufla, a una temperatura de 625°C, posteriormente esta se apagó y se sacaron los crisoles de la misma al día siguiente.

- Se pesaron los crisoles con la materia incinerada. Los crisoles deben ser manipulados con pinzas especiales.
- Se calculó el contenido total de cenizas, utilizando la fórmula correspondiente.

b. Determinación de humedad

Para determinar el porcentaje de humedad del material vegetal se seleccionó una parte representativa de la cantidad total, como muestra, asegurando su homogeneidad. Se molió la muestra y se distribuyó en un platillo para luego introducirlo en la balanza que determinó el contenido de humedad (Anexo 10).

E. Diseño Experimental

1. Diseño de la Investigación

Estudio de tipo descriptivo.

2. Análisis estadístico

Este estudio incluyó la determinación de variables cualitativas y cuantitativas. De las variables cualitativas se realizaron cuatro repeticiones y de las variables cuantitativas seis repeticiones, estableciéndose medidas de tendencia central, media y mediana, desviación estándar y rango. Los resultados se analizaron en forma descriptiva para la planta proveniente de cada una de las tres localidades en estudio, reportándose en tablas y fotografías con las características anatomorfológicas e histoquímicas.

VIII. RESULTADOS

A. CARACTERÍSTICAS MACROSCÓPICAS Y DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

1. Descripción diagnóstica

Para una rápida identificación de la planta se propone la siguiente descripción diagnóstica: hierba erecta de aproximadamente 50 cm de altura, tallos puberulentos, hojas delgadas, finas-peteoladas, aserradas, ampliamente ovaladas y pálidas al envés. Posee flores en panícula delgada y racemosa, con numerosos verticilios, pedicelos recurvados, cáliz puberulento, labio superior amplio, cóncavo, corola blanca de aproximadamente 4 mm de largo (Figura 1). La muestra seca es de color café verdoso, olor especiado similar al clavo, delgada y quebradiza e incluye todas las partes de la planta (Figura 2).



Fuente: Datos experimentales

Figura 1: Materia vegetal fresca de *Ocimum micranthum*



Fuente: Datos experimentales
Figura 2: Materia vegetal seca de *O. micranthum*

2. Recolección y herborización de ejemplares frescos

Se recolectaron ejemplares frescos de *O. micranthum* de las tres regiones en estudio: Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz; Livingston, Izabal y Mazatenango, Suchitepéquez ubicados a 140, 80 y 620 metros sobre el nivel del mar (msnm) respectivamente. Estas muestras fueron llevadas al Herbario Biología Guatemala (BIGU) donde se identificaron como dicha especie según la Flora de Guatemala. Además se herborizaron y depositaron en este herbario tres ejemplares de *O. micranthum* (Figura 3), uno por cada región, los cuales fueron registrados e incorporados a las colecciones con los números 52309, 53638 y 53639 (Anexo 11).



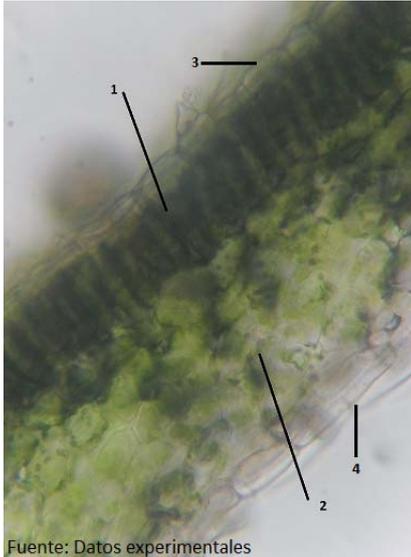
Fuente: Datos experimentales
Figura 3: Ejemplar herborizado de *Ocimum micranthum*

B. CARACTERES MICROMORFOLÓGICOS E HISTOLÓGICOS DE *OCIMUM MICRANTHUM*

1. Cortes a mano alzada

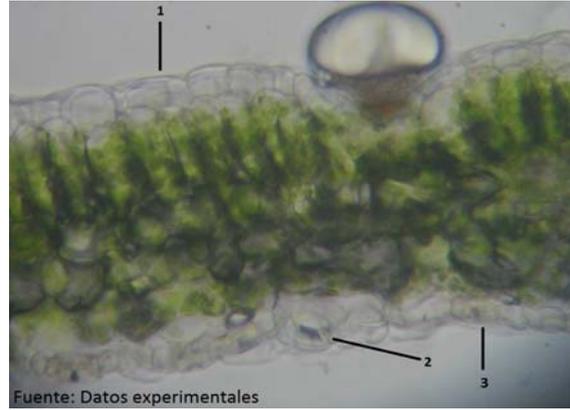
a. Hoja

En los cortes transversales de hoja de las muestras provenientes de Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz, Livingston, Izabal y Mazatenango, Suchitepéquez se observó el parénquima en empalizada con células alargadas de diferente tamaño, cortas e irregulares, formando una fila justo por debajo de la epidermis superior, con numerosos cloroplastos y parénquima esponjoso con células dispuestas irregularmente con algunos espacios aéreos entre sí y pocos cloroplastos; las células epidérmicas son grandes, aplanadas con bordes ondulados, con estomas en la epidermis inferior (Figura 4 y 5). En la nervadura central se identificó el tejido vascular constituido por el xilema y floema, uno arriba del otro, parénquima y colénquima de tipo angular (Figura 6-8). Además de la nervadura central, se observaron dos nervaduras a cada lado de ésta, de tamaño más pequeño (Figura 9). Se identificó la presencia de grandes glándulas productoras de aceite ubicadas por encima de la epidermis tanto superior como inferior (Figura 10 y 11), tricomas glandulares (Figura 12 y 13), tricomas uniseriados tipo tector de dos y más células (Figura 14), tricomas cónicos pluricelulares (Figura 15) y en mayor cantidad tricomas papilares unicelulares, tanto en la epidermis que recubre el mesófilo como en la nervadura central (Figura 16).



Fuente: Datos experimentales

Figura 4: Corte transversal de hoja.
 (1) Parénquima en empalizada (2) Parénquima esponjoso (3) Epidermis superior (4) Epidermis inferior.
 400X. Tinción: Sulfato férrico.



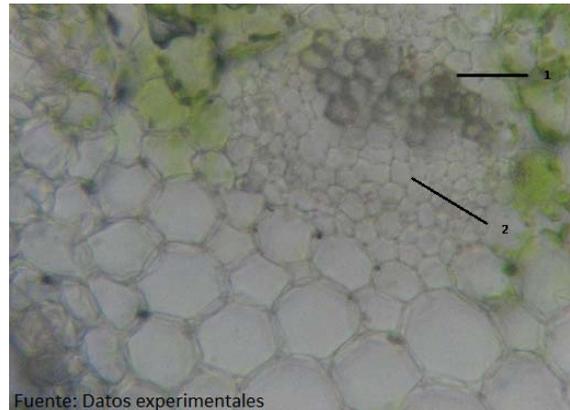
Fuente: Datos experimentales

Figura 5: Corte transversal de hoja.
 (1) Células epidérmicas. Epidermis superior (2) Estoma (3) Epidermis inferior.
 400X. Sin teñir.



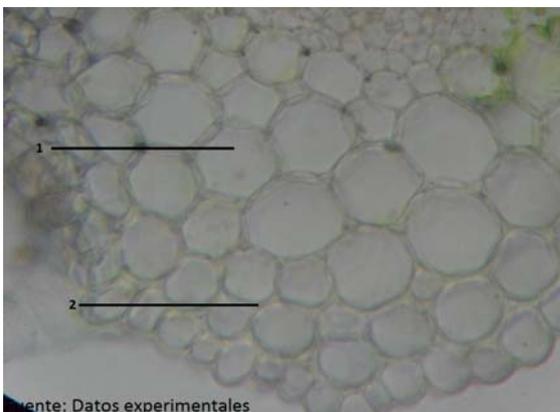
Fuente: Datos experimentales

Figura 6: Corte transversal de hoja.
 (1) Nervadura central.
 100X. Sin teñir.



Fuente: Datos experimentales

Figura 7: Corte transversal de hoja.
 (1) Xilema y (2) Floema en nervadura central.
 400X. Sin teñir.



Fuente: Datos experimentales

Figura 8: Corte transversal de hoja.
 (1) Parénquima y (2) Colénquima angular en nervadura central.
 400X. Sin teñir

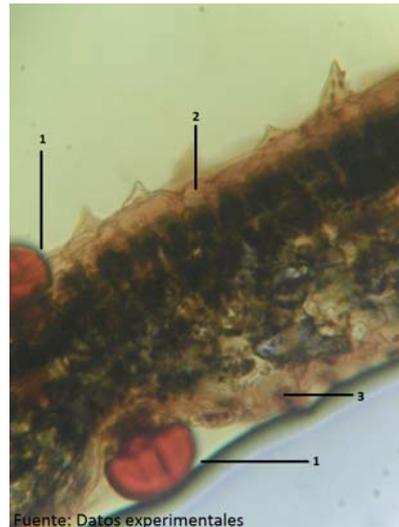


Fuente: Datos experimentales

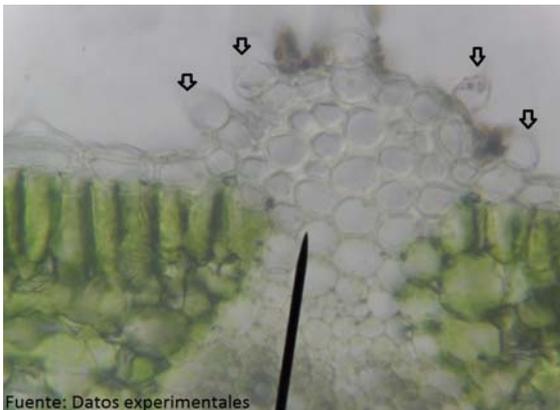
Figura 9: Corte transversal de hoja.
 Nevadura alterna.
 100X. Tinción: Sulfato férrico.



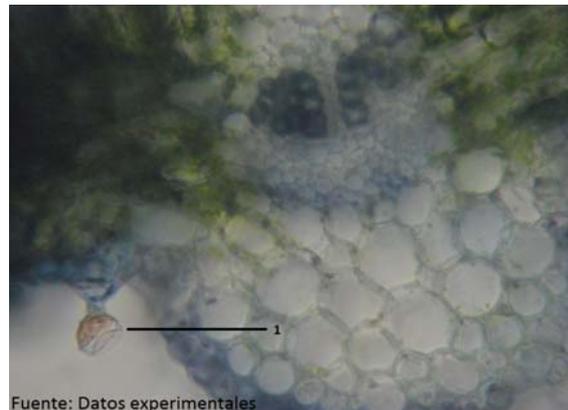
Fuente: Datos experimentales
 Figura 10: Corte transversal de hoja.
 (1) Glándula productora de aceite
 (2) Epidermis superior.
 400X. Sin teñir.



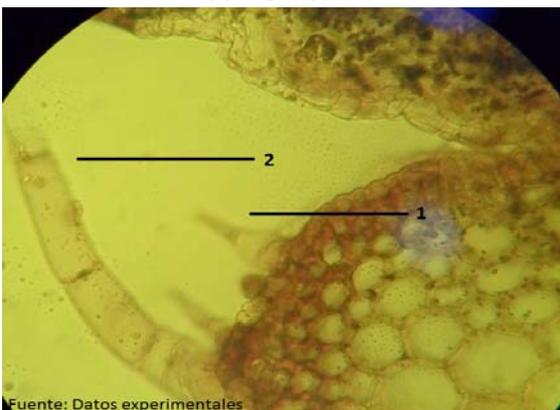
Fuente: Datos experimentales
 Figura 11: Corte transversal de hoja.
 (1) Glándulas productoras de aceite
 (2) Epidermis superior (3) Epidermis inferior.
 400X. Tinción: Lugol.



Fuente: Datos experimentales
 Figura 12: Corte transversal de hoja.
 Tricomas glandulares en nervadura central.
 400X. Sin teñir.



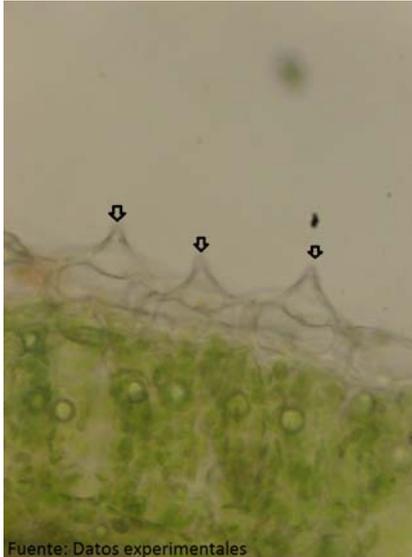
Fuente: Datos experimentales
 Figura 13: Corte transversal de hoja.
 (1) Tricoma glandular capitado.
 400X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fuente: Datos experimentales
 Figura 14: Corte transversal de hoja.
 (1) Tricoma uniseriado tipo tector de dos células (2) Tricoma uniseriado tipo tector de cuatro células en nervadura central.
 400X. Tinción: Dragendorff



Fuente: Datos experimentales
 Figura 15: Corte transversal de hoja.
 (1) Tricoma cónico de tres células.
 400X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fuente: Datos experimentales

Figura 16: Corte transversal de hoja.
Tricoma papilar unicelular en epidermis superior o adaxial.
400X. Sin teñir.

b. Tallo

El tallo de las muestras de las tres localidades estudiadas presentó una forma cuadrangular (Figura 17) en cuyos extremos se pudo distinguir los remanentes de floema y xilema primario, así como el floema secundario, elementos de los vasos del xilema, células del esclerénquima, parénquima de tipo angular en la médula y epidermis con células aplanadas poligonales (Figura 18). En los extremos de la parte media se identificó colénquima, floema y xilema (Figura 19). Al igual que en el limbo, se observaron glándulas productoras de aceite, tricomas uniseriados tipo tector de dos y más células y algunos tricomas glandulares (Figura 20-22).



Figura 17: Estructura cuadrangular en corte transversal de tallo. 100X. Sin tinción.

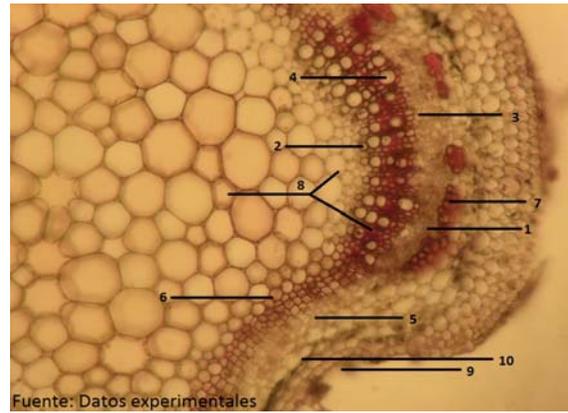


Figura 18: Corte transversal de tallo. (1) Floema primario (2) Xilema primario (3) Floema secundario (4) Elementos de los vasos del xilema (5) Floema (6) Xilema (7) Esclerénquima (8) Parénquima (9) Epidermis y (10) Colénquima. 400X. Tinción: Dragendorff

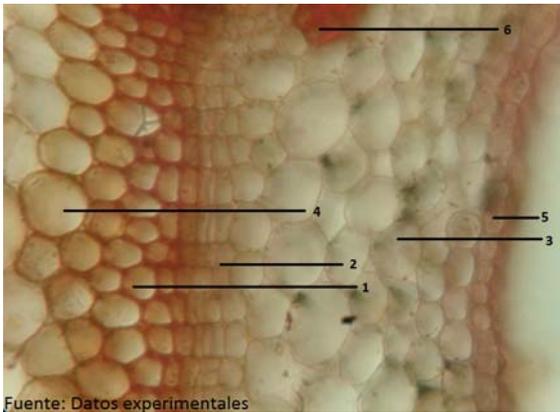


Figura 19: Corte transversal de tallo. (1) Xilema (2) Floema (3) Colénquima (4) Parénquima y (5) Epidermis. 400X. Tinción: Lugol.

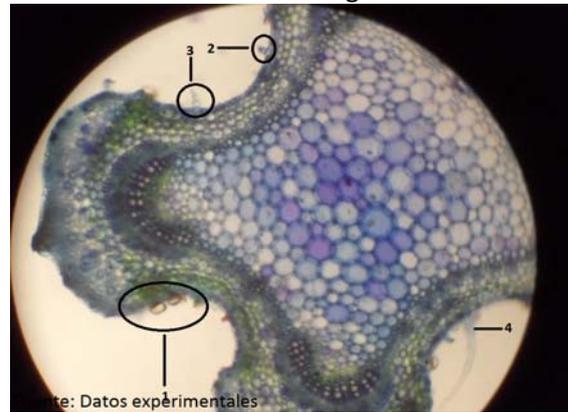


Figura 20: Corte transversal de tallo. (1) Glándulas productoras de aceite (2) Tricoma glandular (3) Tricoma uniseriado tipo tector de tres células y (4) Tricoma uniseriado pluricelular tipo tector. 100X. Tinción: Azul de cresil al 1%



Figura 21: Corte transversal de tallo. Glándula productora de aceite en la epidermis. 400X. Tinción: Sudan IV.



Figura 22: Corte transversal de tallo. Tricoma glandular. 400X. Tinción: Sudán IV.

2. Diafanizado de hoja

En la cara abaxial de la hoja de las muestras provenientes de las tres regiones estudiadas se observaron estomas diacíticos (Figura 23), algunos cloroplastos, traqueidas (Figura 24), tricomas uniseriados multicelulares tipo tector (Figura 25), floema y xilema de la nervadura central, cuyos vasos no alcanzan el ápice de la hoja (Figura 26). En la cara adaxial se pudieron identificar las células del clorénquima de empalizada (Figura 27), además de otras estructuras presentes en ambas caras de la hoja con venación reticulada cerrada, tales como células epidérmicas, glándulas productoras de aceite, tricomas papilares unicelulares, bases de tricomas glandulares, bases de tricomas unicelulares o uniseriados tipo tector (Figura 27-31).



Figura 23: Diafanizado abaxial de hoja.
Estoma diacítico.
400X. Tinción: Safranina.



Figura 24: Diafanizado abaxial de hoja.
(1) Cloroplastos (2) Traqueida.
100X. Tinción: Safranina.

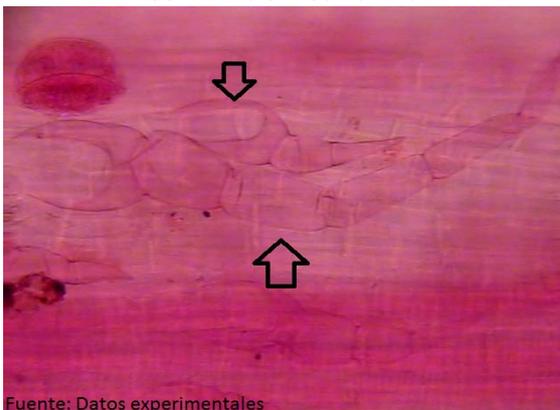


Figura 25: Diafanizado abaxial de hoja.
Tricomas uniseriados multicelulares tipo
tector. 400X. Tinción: Safranina.



Figura 26: Diafanizado abaxial de hoja.
Ápice de la hoja.
100X. Tinción: Safranina.



Figura 27: Diafanizado adaxial de hoja.
 (1) Células epidérmicas (2) Células del
 clorénquima. 400X. Tinción: Safranina.

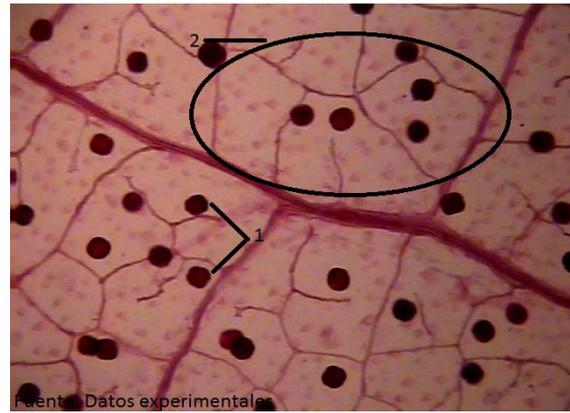


Figura 28: Diafanizado adaxial de hoja.
 (1) Venación reticulada cerrada (2) Glándulas
 productoras de aceite.
 100X. Tinción: Safranina.



Figura 29: Diafanizado abaxial de hoja.
 Glándula productora de aceite.
 400X. Tinción: Safranina.



Figura 30: Diafanizado abaxial de hoja.
 Tricomas papilares unicelulares.
 400X. Tinción: Safranina.



Figura 31: Diafanizado abaxial de hoja.
 Bases de tricomas (1) Glandular (2) Papilar
 unicelular o uniseriado tipo tector.
 400X. Tinción: Safranina.

3. Disociado débil

a. Hoja

Se identificó en las muestras de las tres localidades la presencia de cloroplastos, células epidérmicas, glándulas productoras de aceite, tricomas y bases de los mismos, estomas, traqueidas, fibras, fibroesclereidas, y xilema helicoidal (Figura 31-40).



Figura 31: Disociado débil de hoja. Cloroplastos. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 32: Disociado débil de hoja. (1) Epidermis de nervadura central (2) Glándula productora de aceite. 100X. Tinción: Safranina.

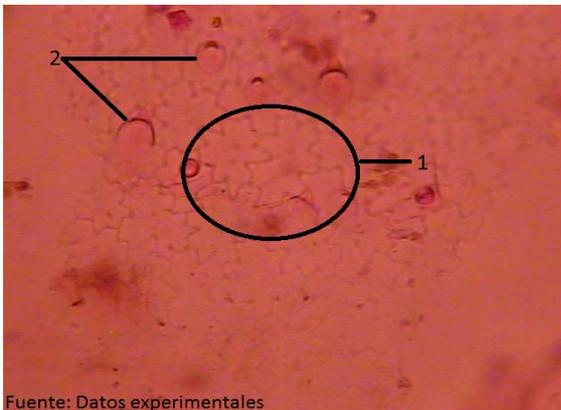


Figura 33: Disociado débil de hoja. (1) Células epidérmicas (2) Tricomas papilares unicelulares. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 34: Disociado débil de hoja. Tricomas uniseriados multicelulares tipo tector. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 35: Disociado débil de hoja.
 (1) Bases de tricomas (2) Estomas
 (3) Cloroplastos. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 36: Disociado débil de hoja.
 Estomas. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 37: Disociado débil de hoja.
 Traqueidas. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 38: Disociado débil de hoja.
 Fibra. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 39: Disociado débil de hoja.
 Fibroesclereidas. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 40: Disociado débil de hoja.
 Xilema helicoidal. 100X. Tinción: Safranina.

b. Tallo

Se pudieron identificar, en todas las muestras de cada localidad, bases de los diferentes tipos de tricomas, colénquima, fragmentos de corteza, células epidérmicas, células de corcho, células parenquimáticas, esclereidas, fibras, fibroesclereidas, placas perforadas, tricomas, xilema helicoidal y floema con sus vasos acompañantes (Figura 41-49).



Figura 41: Disociado débil de tallo. Bases de tricomas (1) Glandular (2) Papilar unicelular o uniseriado tipo tector. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 42: Disociado débil de tallo. Colénquima. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 43: Disociado débil de tallo. Corteza. 100X. Tinción: Safranina.

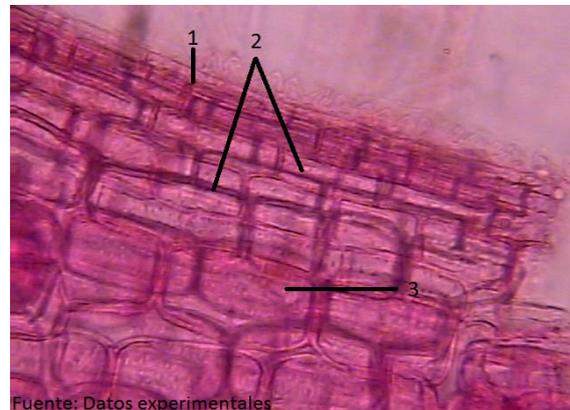


Figura 44: Disociado débil de tallo. (1) Células epidérmicas (2) Células de corcho (3) Células parenquimáticas. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 45: Disociado débil de tallo.
Esclereida. 100X. Tinción: Safranina.

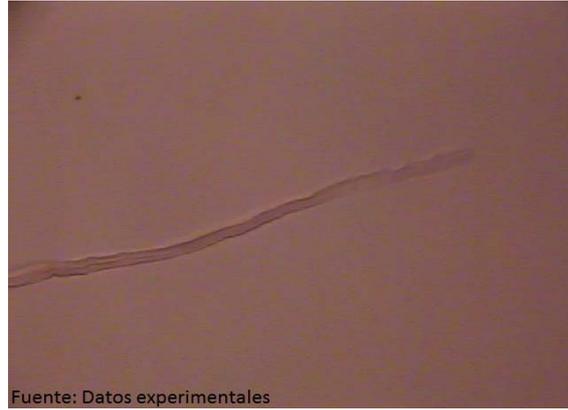


Figura 46: Disociado débil de tallo.
Fibra. 100X. Tinción: Safranina.



Figura 47: Disociado débil de tallo.
Fibrosclereidas. 100X. Tinción: Safranina.

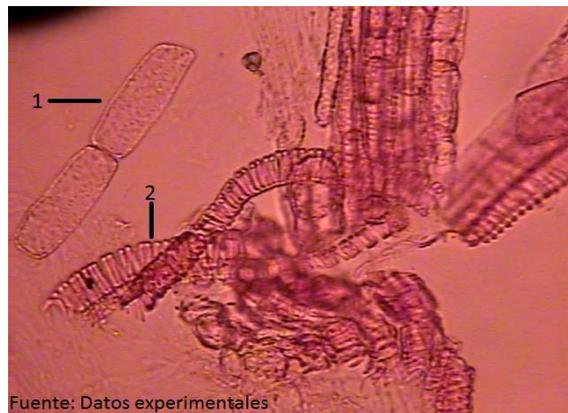


Figura 48: Disociado débil de tallo.
(1) Placas perforadas (2) Xilema helicoidal.
100X. Tinción: Safranina.

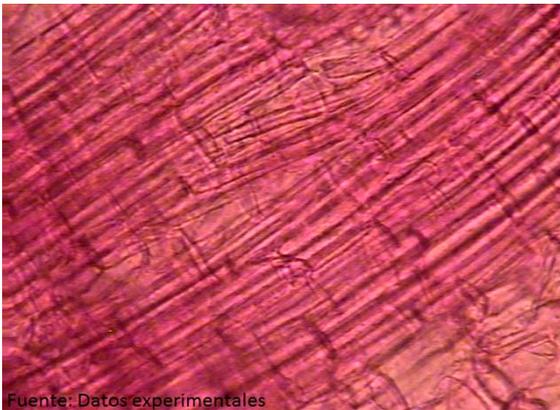


Figura 49: Disociado débil de tallo.
Vasos acompañantes de xilema y floema.
100X. Tinción: Safranina.

Tabla No. 1: Resumen de caracteres micromorfológicos e histológicos de

Localidades	Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz	Livingston, Izabal	Mazatenango, Suchitepéquez
Caracteres Presentes			
Estomas diacíticos	+	+	+
Glándulas productoras de aceite	+	+	+
Tricomas glandulares	+	+	+
Tricomas pluricelulares uniseriados tipo tector	+	+	+
Tricomas cónicos	+	+	+
Tricomas papilares unicelulares	+	+	+
Hoja con venación reticulada cerrada	+	+	+
Haz vascular colateral	+	+	+
Tallo cuadrangular	+	+	+

***Ocimum micranthum* de tres localidades distintas**

Fuente: Datos experimentales

+ : Presencia de caracteres

4. Índice de estomas e índice de empalizada

Tabla No. 2: Determinación de índice de estomas e índice de empalizada de *Ocimum micranthum* de tres localidades distintas

Localidad	índice de estomas	índice de empalizada
Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz	23	4
Livingston, Izabal	28	4
Mazatenango, Suchitepéquez	29	4

Fuente: Datos Experimentales

C. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

1. Identificación microquímica

La reacción de alcaloides resultó positiva en la hoja, específicamente en el mesófilo y epidermis de la nervadura central (Figura 50 y 51), así como el xilema y floema del tallo (Figura 52). Se observaron grasas y aceites en la cutícula, epidermis del mesófilo, nervadura central de la hoja, cutícula y epidermis del tallo, como también en las glándulas productoras de aceite presentes en la epidermis de la hoja. Asimismo se observaron gotas de aceite en el mesófilo, colénquima de nervadura central; colénquima y parénquima del tallo (Figura 53-55). La reacción de mucílagos fue positiva en epidermis, floema y xilema en nervadura central de la hoja (Figura 56 y 57) y en el floema secundario y esclerénquima del tallo observándose un color azul Francia (Figura 58 y 59). Se determinó la presencia de saponinas en las glándulas productoras de aceite ubicadas en la hoja, así también se observó una reacción positiva en el tallo dando una coloración amarillo-naranja inmediata que a los treinta minutos cambio a rojo (Figura 60-63).

Se observó una reacción negativa, tanto para almidones (Figura 64 y 65) como para taninos en la hoja y el tallo (Figura 66 y 67).



Fuente: Datos experimentales
Figura 50: Corte transversal de hoja.
Alcaloides positivo en mesófilo.
400X. Tinción: Dragendorff.



Fuente: Datos experimentales
Figura 51: Corte transversal de hoja.
Alcaloides positivo en epidermis de nervadura
central.
400X. Tinción: Dragendorff.



Fuente: Datos experimentales

Figura 52: Corte transversal de tallo. Alcaloides positivo en (1) xilema y (2) floema. 400X. Tinción: Dragendorff.



Fuente: Datos experimentales

Figura 53: Corte transversal de hoja. Grasas y aceites positivo en (1) cutícula (2) epidermis de mesófilo (3) glándulas productoras de aceite en epidermis de hoja. 400X. Tinción: Sudan IV.



Fuente: Datos experimentales

Figura 54: Corte transversal de hoja. Grasas y aceites positivo en nervadura central (1) colénquima de la nervadura central. 400X. Tinción: Sudan IV.



Fuente: Datos experimentales

Figura 55: Corte transversal de tallo. Grasas y aceites positivo en (1) cutícula (2) epidermis y (3) colénquima. 400X. Tinción: Sudan IV.



Fuente: Datos experimentales

Figura 56: Corte transversal de hoja. Mucílagos positivo en epidermis de la hoja. 400X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



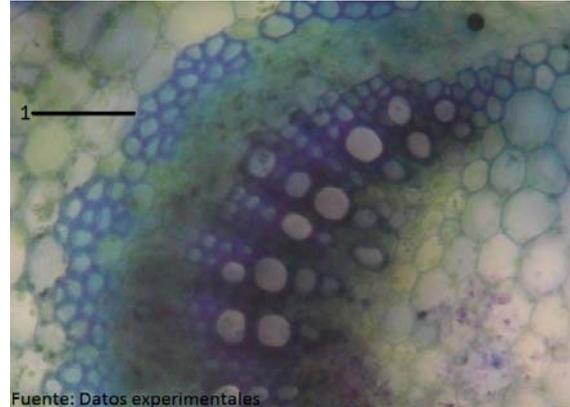
Fuente: Datos experimentales

Figura 57: Corte transversal de hoja. Mucílagos positivo en (1) xilema y (2) floema en nervadura central. 400X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fuente: Datos experimentales

Figura 58: Corte transversal de tallo.
Mucílagos positivo en el floema secundario.
100X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fuente: Datos experimentales

Figura 59: Corte transversal de tallo.
Mucílagos positivo en
(1) esclerénquima.
400X. Tinción: Azul de cresil al 1%.



Fuente: Datos experimentales

Figura 60: Corte transversal de hoja.
Saponinas positivo en glándulas productoras
de aceite, inmediatamente después de
agregado el reactivo.
400X. Tinción: Acido sulfúrico.



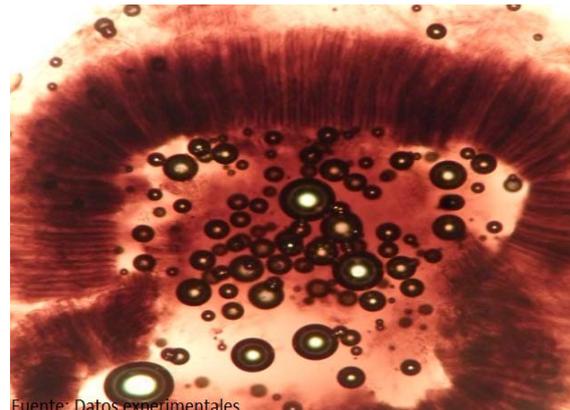
Fuente: Datos experimentales

Figura 61: Corte transversal de hoja.
Saponinas positivo en glándulas productoras
de aceite, después de treinta minutos de
haber agregado el reactivo.
100X. Tinción: Acido sulfúrico.



Fuente: Datos experimentales

Figura 62: Corte transversal de tallo.
Saponinas positivo, inmediatamente después
de agregado el reactivo.
100X Tinción: Acido sulfúrico.



Fuente: Datos experimentales

Figura 63: Corte transversal de tallo.
Saponinas positivo, después de treinta
minutos de haber agregado el reactivo.
400X Tinción: Acido sulfúrico.



Fuente: Datos experimentales

Figura 64: Corte transversal de hoja.
Almidones negativo.
400X. Tinción: Lugol.



Fuente: Datos experimentales

Figura 65: Corte transversal de tallo.
Almidones negativo.
400X. Tinción: Lugol.



Fuente: Datos experimentales

Figura 66: Corte transversal de hoja.
Taninos negativo.
400X. Tinción: Sulfato férrico.



Fuente: Datos experimentales

Figura 67: Corte transversal de tallo.
Taninos negativo.
400X. Tinción: Sulfato férrico.

Tabla No. 3: Resumen de características microquímicas de *Ocimum micranthum* de tres localidades distintas

Metabolito	Alcaloides	Almidones	Grasas y aceites	Mucilagos	Saponinas	Taninos
Tipo muestra por Localidad						
Hoja de Fray Bartolomé de las Casas	+	-	+	+	+	-
Tallo de Fray Bartolomé de las Casas	+	-	+	+	+	-
Hoja de Mazatenango	+	-	+	+	+	-
Tallo de Mazatenango	+	-	+	+	+	-
Hoja de Livingston	+	-	+	+	+	-
Tallo de Livingston	+	-	+	+	+	-

Fuente: Datos Experimentales

+: Positivo

-: Negativo

~+: Débilmente positivo

2. Cromatografía en capa fina

Tabla No. 4: Determinación de metabolitos secundarios de *Ocimum micranthum* de tres localidades distintas utilizando cromatografía en capa fina

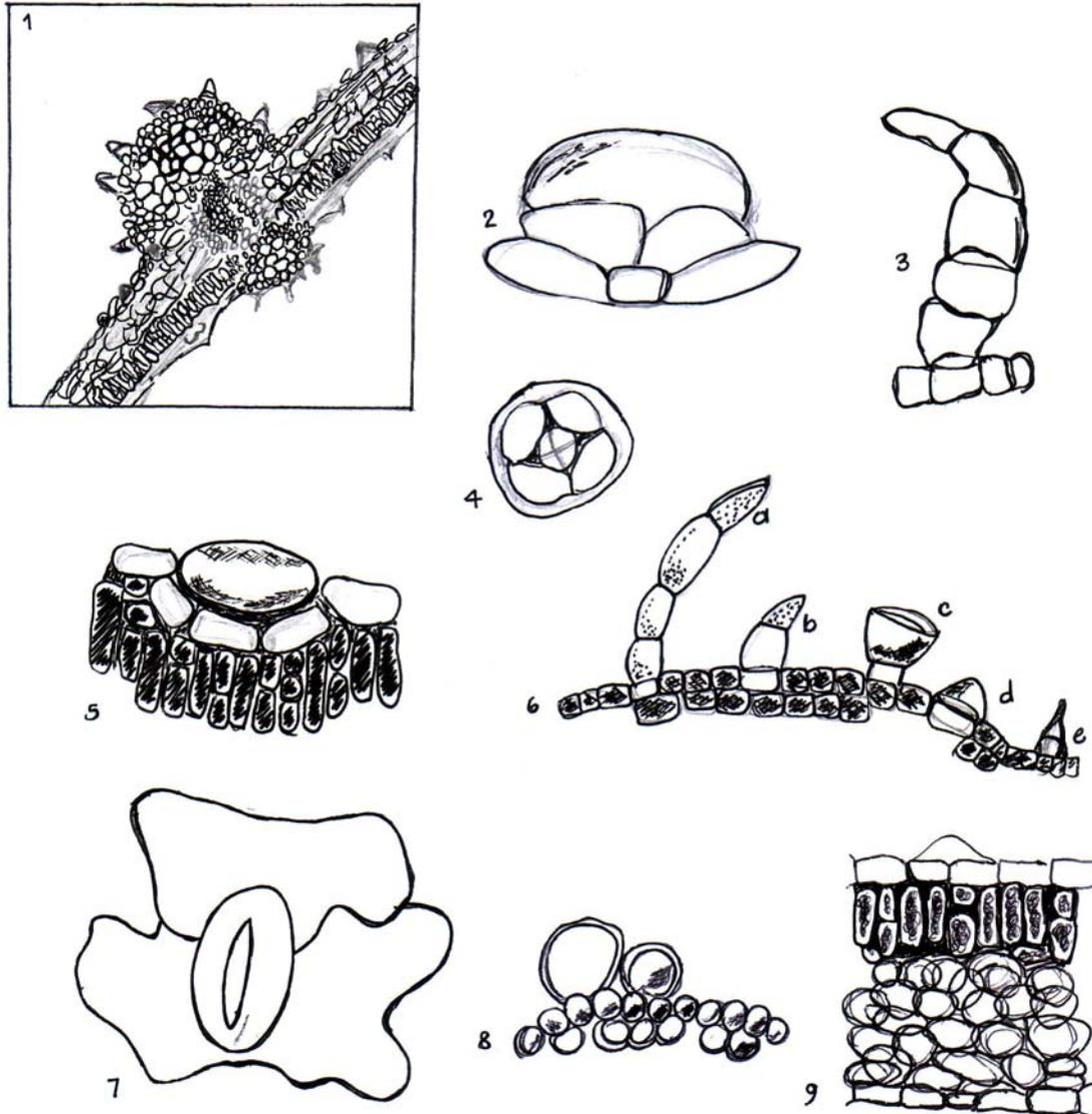
Localidad	Aceites volátiles	Alcaloides	Flavonoides	Saponinas
Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz	+	+	+	+
Livingston, Izabal	+	+	+	+
Mazatenango, Suchitepéquez	+	-	+	+

Fuente: Datos Experimentales

+: Positivo
-: Negativo

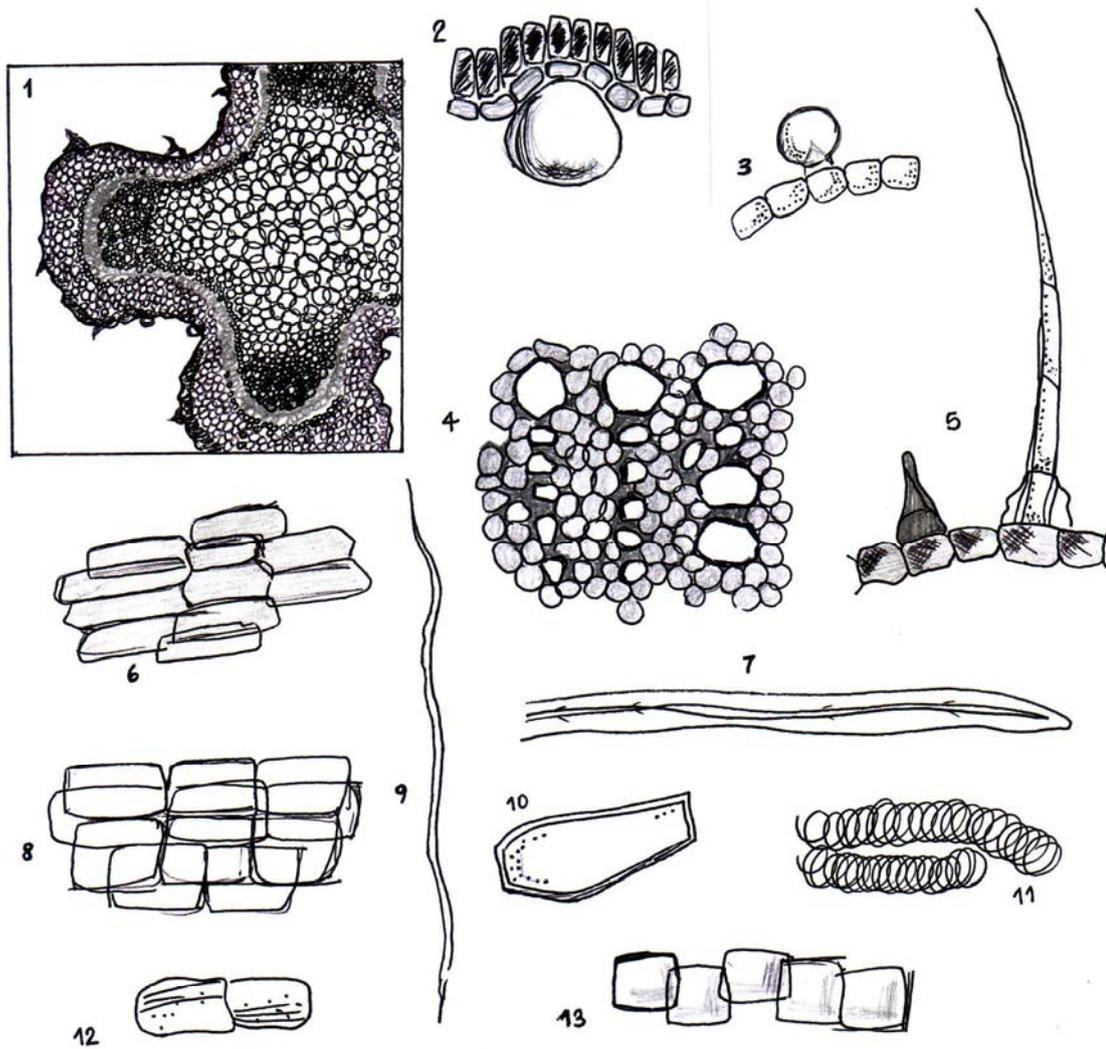
D. CARTILLA MICROGRÁFICA

Cartilla micrográfica de hoja de
Ocimum micranthum



Cartilla No. 1 (1) Acercamiento de corte transversal de hoja de *Ocimum micranthum*. Nótese los tricomas en ambos lados de la hoja. (2) Glándula productora de aceite sobre epidermis, vista en corte transversal. (3) Tricoma uniseriado pluricelular tipo tector. (4) Glándula productora de aceite, vista en diafanizado. (5) Glándula productora de aceite sobre la epidermis superior, vista en corte transversal. (6) a. Tricoma uniseriado tipo tector de cuatro células. b. Tricoma uniseriado tipo tector de dos células. c. Tricoma glandular capitado. d. Tricoma papilar. e. Tricoma cónico de dos células. (7) Estoma diacítico. (8) Tricoma glandular en nervadura central (9) Lámina con tricoma papilar.

Cartilla micrográfica de tallo de
Ocimum micranthum



Cartilla No. 2 (1) Acercamiento de corte transversal de tallo de *Ocimum micranthum*. Nótese las glándulas productoras de aceite. (2) Glándula productora de aceite sobre epidermis, vista en corte transversal. (3) Tricoma glandular. (4) Xilema primario y secundario. Elementos de los vasos del xilema. (5) (a) Tricoma cónico de dos células (b) Tricoma uniseriado tipo tector pluricelular. (6) Colénquima. (7) Fibroesclereida. (8) Células de corcho. (9) Fibra. (10) Placa perforada. (11) Xilema helicoidal. (12) Esclereida. (13) Células parenquimatosas.

E. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD Y CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES

Tabla No. 5: Porcentaje de humedad de *Ocimum micranthum* de tres localidades distintas

Lectura Localidad	Porcentaje de Humedad (%)						Media \pm DS*	Mediana	Rango establecido
	No. 1	No. 2	No.3	No. 4	No. 5	No. 6			
Fray Bartolomé de las Casas	9.3	14.84	10.96	12.07	11.45	12.13	11.79 \pm 1.82	11.76	9.3-14.84
Livingston	9.77	13.95	10.90	11.19	10.19	12.61	11.43 \pm 1.57	11.04	9.77-13.95
Mazatenango	7.39	14.60	12.28	11.11	9.99	11.11	11.08 \pm 2.39	11.11	7.39-14.60

Fuente: Datos Experimentales

*Desviación estándar

Tabla No. 6: Contenido de cenizas totales de *Ocimum micranthum* de tres localidades distintas

Lectura Localidad	Contenido de cenizas totales (%)						Media \pm DS*	Mediana	Rango establecido
	No. 1	No. 2	No.3	No. 4	No. 5	No. 6			
Fray Bartolomé de las Casas	7.75	7.35	8.20	8.58	8.48	8.05	8.07 \pm 0.44	8.12	7.35-8.58
Livingston	10.01	9.61	9.10	9.53	8.95	8.41	9.27 \pm 0.57	9.31	8.41-10.01
Mazatenango	9.24	8.96	9.00	9.11	8.61	8.45	8.89 \pm 0.30	8.98	8.45-9.24

Fuente: Datos Experimentales

*Desviación estándar

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Para el estudio del material fresco se realizaron cortes transversales de hoja y tallo, observándose que el haz vascular de la nervadura central está orientado de manera que el xilema es adaxial y el floema abaxial, es decir son colaterales; esto como consecuencia de la continuidad vascular entre tallo y hoja. Además de esto se identificaron glándulas productoras de aceite, distintos tipos de tricomas los cuales pueden cumplir funciones protectoras en la planta o en el caso de los tricomas glandulares secretar diferentes metabolitos secundarios, como aceites esenciales, característico de la especie. El tallo presentó morfología cuadrangular en sección transversal lo cual es característico de la familia *Lamiaceae*. No se encontró alguna diferencia entre localidades al estudiar los caracteres antes mencionados.

Los cortes transversales de las hojas de ejemplares provenientes de Mazatenango, Suchitepéquez y Livingston, Izabal presentaron parénquima de empalizada más grueso y uniforme, con células más ordenadas en comparación a lo observado en las hojas de Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz, lo que puede deberse a la cantidad de luz a la que estuvieron expuestos dichos ejemplares, tomando en cuenta que el área de Alta Verapaz es más boscosa y por esto en las hojas expuestas a la sombra el mesófilo de empalizada disminuye en comparación a las hojas expuestas al sol. No se presentaron otras diferencias anatomorfológicas entre hojas y tallos de cada una de las tres localidades.

Tanto el diafanizado de hoja como el disociado de hoja y tallo de todas las muestras evidenciaron la presencia de las mismas estructuras que pueden ser utilizadas en el control de calidad de la especie.

Además de las características microscópicas ya mencionadas para el control de calidad, se evaluó el índice de estomas y empalizada; para este último no hubo variación entre las localidades estudiadas. Por el contrario el índice de estomas varió entre ellas, lo cual pudo ser debido a condiciones estresantes, tanto ambientales como nutricionales, tomando en cuenta que la altura entre estas localidades es distinta.

Debido a que muchos autores reportan que el crecimiento, desarrollo, naturaleza y cantidad de metabolitos secundarios pueden ser afectados por factores ambientales como la temperatura, lluvia, orientación durante el día y la altitud, las cuales eran distintas en cada localidad estudiada, se realizó un tamizaje fitoquímico para demostrar la presencia o ausencia de algunos metabolitos secundarios.

A través de la histoquímica del material vegetal se demostró la presencia de alcaloides, grasas y aceites, mucílagos y saponinas y la ausencia de almidones y taninos en tallo y hoja de ejemplares de las tres localidades estudiadas. Al realizar la cromatografía en capa fina, se confirmó la presencia del alcaloide papaverina, utilizado como estándar, tanto en la muestra de Fray Bartolomé de las Casas, Alta Verapaz como en la muestra proveniente de Livingston, Izabal, el cual puede cumplir la actividad espasmolítica que se le atribuye a la especie vegetal. Sin embargo en la muestra proveniente de Mazatenango, Suchitepéquez no pudo demostrarse la presencia del alcaloide papaverina, lo cual puede indicar que dicha muestra posee alcaloides distintos al utilizado como estándar. La reacción de grasas y aceites esenciales fue positiva en hoja y tallo de los tres ejemplares. A los aceites esenciales les es atribuida la actividad contra bacterias, hongos e insectos descrita para la planta. La presencia de saponinas en las muestras de las regiones estudiadas le aporta a la especie vegetal la acción irritante de las células, el efecto antiedematoso, antiinflamatorio, antimicrobiano, antivírico y antimicótico, descrito para la misma. Además de todas las propiedades medicinales descritas para *O. micranthum*, se agrega un posible efecto antioxidante por demostrarse la presencia de flavonoides y antocianinas en las muestras de las tres localidades. Tomando en cuenta lo anterior, no existen diferencias importantes en la producción de metabolitos secundarios entre las muestras cultivadas a distintas alturas.

Finalmente se determinó el porcentaje de humedad y el contenido total de cenizas, parámetros que aportan información importante en el control de calidad de la materia vegetal.

Los valores del contenido de humedad de la materia vegetal fueron similares entre las tres muestras, habiendo una pequeña variación entre las mismas, lo cual pudo deberse a que la materia vegetal absorbe humedad rápidamente al estar a temperatura ambiente. Esto pudo contribuir a que los valores encontrados excedieran los valores establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para materia de uso medicinal, el cual debe ser menor al 10%. Por lo anterior se considera necesario llegar al mínimo de humedad utilizando el secado en horno antes de utilizar la materia vegetal seca de la especie.

Se determinó que los valores de cenizas totales para las tres localidades estudiadas son muy similares y estos se encontraban dentro de los valores referidos por la OMS para el contenido de cenizas totales en materia vegetal para uso médico (menor a 10%), esto refleja que posiblemente al suelo de estas localidades no se le aplique productos químicos que puedan alterar este parámetro. Los valores de la media y la mediana tanto para la determinación del contenido de humedad como para cenizas totales son muy similares entre sí, lo que refleja una media representativa de los datos obtenidos en cada determinación. Por lo anterior, se establece que el contenido de humedad y cenizas totales no es variable en las muestras provenientes de cada una de las tres localidades, sin ser la altura un factor que afecte dichos parámetros.

X. CONCLUSIONES

1. No existen diferencias importantes entre estructuras anatomorfológicas de hoja y tallo de muestras de *O. micranthum* provenientes de cada una de las tres regiones estudiadas, lo cual facilita la selección de parámetros para la elaboración de normas de calidad de la especie.
2. Se demostró histoquímicamente la presencia de alcaloides, grasas y aceites esenciales, mucílagos y saponinas y ausencia de almidones y taninos en tallo y hoja de ejemplares de las tres localidades estudiadas.
3. La técnica de cromatografía en capa fina puso de manifiesto diferencias en la producción de alcaloides en la especie estudiada, lo cual es importante en la selección del material para fines terapéuticos.
4. No existen diferencias del contenido de humedad y cenizas totales entre las muestras de *O. micranthum* provenientes de cada una de las tres regiones estudiadas.
5. La altura no es un factor que afecte de manera importante los caracteres farmacobotánicos de *O. micranthum* evaluados en este estudio.

XI. RECOMENDACIONES

1. Investigar si la época del año, además de la altura, puede afectar los caracteres farmacobotánicos de *Ocimum micranthum*.
2. Investigar si la etapa fenológica afecta los caracteres farmacobotánicos de *Ocimum micranthum*.
3. Utilizar un mayor número de estándares en la investigación de metabolitos secundarios por medio de cromatografía en capa fina.
4. Determinar las propiedades farmacológicas de *O. micranthum* a través de distintos bioensayos.
5. Realizar un estudio donde se comparen los caracteres farmacobotánicos de *O. micranthum* y *O. basilicum*.
6. Realizar cuantificación de metabolitos secundarios para comparar si la concentración de los mismos varía con aspectos ambientales o etapas fenológicas.
7. Establecer cultivos controlados de la especie para estandarizar las investigaciones que se realicen en el futuro.
8. Para asegurar la calidad de la materia seca de *O. micranthum* utilizar el secado en horno previo a su utilización.

XII. REFERENCIAS

1. Domínguez XA. Métodos de investigación Fitoquímica. 1.ed. Mexico: Editorial Limusa. 1985. 281pp. 23p.
2. Cáceres A. et al. Fichas Populares sobre plantas medicinales. CEMAT-FARMAYA Serie I No. 14 2da. Ed. Guatemala 1990. 56-62, 107-111 p.
3. Rosales C. et al. Manual de Laboratorio Farmacobotánica I. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2001. 88p.
4. Ramírez C. Importancia de las plantas medicinales. El mundo de las plantas. Revista de Botánica y Jardinería. Botanical-online. México 1999. Disponible en <<http://www.botanical-online.com/plantasmedicinalesimportancia.htm>>
5. Cáceres C, Samayoa BL. Actividad antibacteriana de plantas usadas en Guatemala para el tratamiento de infecciones. Guatemala: USAC-DIGI. 1990. 100 p.
6. Pahlow M. El gran libro de las Plantas Medicinales, la salud mediante las fuerzas curativas de la naturaleza. 5ta. Ed. España: editorial Everest, S. A. 1985. 465 p.
7. Fitoterapia; Vademecum de prescripción. Plantas medicinales. Asociación española de médicos naturistas. 3.ed. España: MASSON, S.A. 1998. 1148p.
8. Volák J. Plantas Medicinales. Checoslovaquia: SUSAETA, S.A. 1989.
9. Bruneton J. Farmacognosia; Fitoquímica y Plantas Medicinales. 2ed. España: Editorial ACRIBIA S.A. 2001. 1099p. 63,72,118,119 y120 pp.
10. Evans WC. Farmacognosia. 13.ed. Mexico: Interamericana McGraw-Hill. 1991. 901p. 61pp.
11. Morales J. Estado de la información forestal en México. Información y análisis para el manejo forestal sostenible: Integrando esfuerzos Nacionales en América Latina. Chile: Oficina Regional de la FAO para América Latina y el Caribe. 2002.
12. Martínez A. Facultad de Química Farmacéutica. Medellín: Universidad de Antioquia 2003. Aceites esenciales. Disponible en: <<http://farmacia.udea.edu.co/~ff/esencias2001b.pdf>>

13. Abdo G. Riquelme AH. Las aromáticas en la huerta orgánica y su rol en el manejo de los insectos. 2ª. ed. Buenos Aires: Inst. Nacional de Tecnología Agropecuaria - INTA. 2008.
14. Medinilla, B. Manual de Laboratorio de Farmacognosia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Escuela de Química Farmacéutica, Departamento de Análisis Aplicado, Guatemala, 1996. (p. 5-7)
15. Principios activos. Aceite esencial. Medicina bioenergética de hierbas y flores de Uruguay. Disponible en <<http://www.mbu.com.uy/?cmd=articulos/articles&id=408&tc=>>
16. Avalos A. Pérez E. Metabolismo secundario de plantas. Fisiología Departamento de Biología Vegetal. Facultad de Biología Universidad Complutense. Madrid: Reduca. Serie fisiología vegetal. 2009 Disponible en: <<http://www.revistareduca.es/index.php/reduca/search/titles?searchPage=2#results>>
17. Muñoz C. et al. Variación de compuestos químicos en hojas de poblaciones de *Drimys* spp. (Magnoliophyta: Winteraceae). Chile. 2004. Disponible en <http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0716078X2004000100005&script=sci_arttext>
18. Cañigueral S. La Fitoterapia: ¿Una terapéutica para el tercer milenio? Revista de Fitoterapia. 2002; Volumen II: 101-120 p.
19. Bunoz B. et al. Efecto de la administración oral de inulina sobre el perfil de lípidos y la sensibilidad a la insulina en individuos con obesidad y dislipidemia. *Chile*. Disponible en: <http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S003498872003000600002&lng=es&nrm=iso>.ISSN00349887.doi:10.4067/S003498872003000600002>
20. Barceló M. et al. Especificaciones de calidad analítica. Zaragoza: AEFA. 2005. 99p. Disponible en: <<http://www.aefa.es/dmdocuments/EspecificacionesCalidad2005.pdf>>
21. Paredes ME. Determinación de algunos estándares de identidad y pureza de cuatro plantas medicinales comercializadas en Guatemala. Guatemala:

- Universidad de San Carlos. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2005. 76 p.
22. Quality assurance of pharmaceuticals, volumen 1. World Health Organization Geneva 1997, 105-110. England.
 23. ISO, Internacional Organization for Standardization. ISO Guide 8402. Ginebra: Quality-Vocabulary. 1994.
 24. Soler BA. Control de Calidad. MUPLAM: Curso de Farmacognosia y Control de Calidad. 2005. 15p.
 25. Diccionario Oficial de la Lengua Española - Real Academia de la Lengua Española – Madrid. 22.ed. Disponible en < <http://buscon.rae.es/drae/>>
 26. Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
 27. Fuller HJ. Ritchie DD. Botánica General. 5ta. ed. México: Compañía editorial Continental S. A. 1979. 272 pp. 13p.
 28. Katzung BG. Farmacología básica y clínica. 6a. ed. México: Editorial El Manual Moderno S. A. 1998 1277p. 3pp.
 29. Cea P. et al. Determinación de la actividad larvívora de los aceites esenciales de 15 especies vegetales contra *Aedes aegypti*. El Salvador: Universidad de El Salvador (tesis de graduación, Facultad de Química y Farmacia).2001.
 30. Manual de Operaciones LIPRONAT. 2005. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala.
 31. Trease GE. Farmacognosia. México: Editorial Continental S.A. 1984. 879 p.
 32. Cáceres A. Vademécum Nacional de Plantas Medicinales, Guatemala: Editorial Universitaria. Universidad de San Carlos de Guatemala, USAC. 2009. 318p. 19pp.
 33. Cáceres A. Plantas de Uso Medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria. 1996. 402 pp.
 34. Standley PC. & Williams L.O. Flora of Guatemala. Fieldiana: Botany. 24. Part II. 1970.
 35. Velez F. et al. Plantas Alimenticias de Venezuela. Venezuela: Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. 1990. 277 pp.

36. House P. Manual popular de 50 plantas medicinales de Honduras. 3ra. Ed. Honduras: CONS-H. 1990
37. Guerrero MG. Obtención y aprovechamiento de extractos vegetales de la flora salvadoreña. 1.ed. El Salvador: Editorial Universitaria. 1994. 559 p
38. Cáceres A. et al. 270 Plantas medicinales Iberoamericanas. 1. ed. Colombia: Taller de editorial Presencia. 1995. 617 p.
39. Guenther E. The Essential Oils: Individual Essential Oils of the Plant Families Rutaceae and Labiatae.III New York: D. Van Nostrand Company Inc. 1949. 654 p.
40. Interstate IL. et al. Mosquito repellent activities of *Ocimum* volatile oils. Phytomed. 1994. 135-139 p.
41. Charles D.J. et al. Essential Oil Constituents of *Ocimum micranthum* Willd. J. Agric. Food Chem. 1990. 120-122.
42. Cruz S. Fraccionamiento Bioguiado y tamizaje Fitoquímico del Extracto etanólico con actividad antiartemia de *Ocimum micranthum* Willd, albahaca de monte. Guatemala: Universidad de San Carlos. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2001. 58 pp. 15, 16, 27, 32 p.
43. Morataya MA. Caracterización farmacopéica de cuatro plantas aromáticas nativas de Guatemala Albahaca de monte (*Ocimum micranthum*), Orégano (*Lippia graveolens*), Salvia sija (*Lippia alba*) y Salviyá (*Lippia chiapasensis*). Guatemala: Universidad de San Carlos. (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 2006. 58 pp.
44. Fahn A. Anatomía Vegetal. 3.ed. España: Ediciones Pirámide S.A. 1985. 599pp. 19-28,289p.
45. Planter. Obtención y Aprovechamiento de Extractos Vegetales de la Flora Salvadoreña. El Salvador: Universidad de El Salvador. 1989. 619 p.
46. Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p
47. Flores E. La planta; Estructura y función. Costa Rica: Tecnología de Costa Rica, Vols, 2, Vol 2, 1999. 884 p.

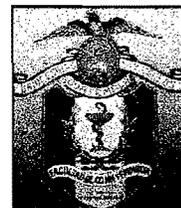
48. Wagner GJ. Tricomas vegetales y resistencia a insectos: Obtención de resistencia a áfidos basado en el aumento de productos naturales mediante la supresión del gen de la P450 hidroxilasa. New York: Nature biotechnology. 2005. 374 p
49. Martínez J. et al. Características de los estomas, densidad e índice estomático y su variación en función a la inestación en *Annona muricata* L. y *A. montana* MADFAC. 2004. Venezuela: Universidad Centrooccidental "Lisandro Alvarado" (UCLA). Vol 16, No. 3, 10 pp.
50. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. 2000. Barcelona: Ediciones Omega, S.A. 514 p.
51. Govin ES. et al. Estudio Farmacognóstico de *Ocimum basilicum* L. (Albahaca blanca). 2000. Cuba: Estación experimental de plantas Medicinales. Vol 3, No. 34, 9pp.
52. World Health Organization. Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials World Health Organization, Geneva, Switzerland; 1998. Disponible en: <<http://www.who.org>>

XIII. ANEXOS

Anexo No.1



**LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA**
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Cortes a mano alzada 1/2
POE No. 1 Enero de 2011



CORTES A MANO ALZADA

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El estudio microscópico de una droga vegetal incluye observar la disposición de los tejidos que la conforman, revelando detalles significativos que ayuden a confirmar la identidad de la planta, permite además identificar y localizar los metabolitos presentes en la misma. Esta técnica puede utilizarse en el estudio de drogas constituidas por hojas, tallos herbáceos, raíces o rizomas, frutos y semillas. Se elaboran cortes del material en sección transversal, para luego procesarlos según la técnica elegida.

II. OBJETIVO

Preparar láminas de planta fresca en sección transversal para su análisis microscópico o para pruebas de histoquímica.

III. RESPONSABLE

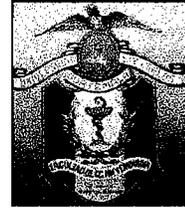
Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de cortes a mano alzada.

IV. DISTRIBUCION

- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes



**LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Cortes a mano alzada 2/2
POE No. 1 Enero de 2011**



V. MATERIALES Y EQUIPO

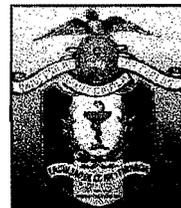
- Duroport
- Hoja de afeitar
- Vidrio de reloj
- Aguja de disección
- Agua destilada

VI. PROCEDIMIENTO

- Colocar un trozo de hoja o tallo entre dos trozos de duroport.
- Sostener fuertemente con una mano el material a cortar, ya acondicionado y con la otra mano, deslizar de manera perpendicular una hoja de afeitar en buenas condiciones.
- Recibir los cortes obtenidos en un vidrio de reloj con agua destilada.
- Seleccionar los cortes más delgados y parejos con la ayuda de una aguja de disección y colocarlos en láminas portaobjetos.
- Procesar según la técnica elegida.
- Observar al microscopio.

REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p
- Soria R. Farmacobotánica. Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1994. 48p.
- Cañigual S. La Fitoterapia: ¿Una terapéutica para el tercer milenio? Revista de Fitoterapia. 2002; Volumen II: 101-120 p.



TECNICA DE DIAFANIZADO

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El diafanizado es el resultado de la aclaración o eliminación completa de cualquier tipo de plastidio para poder observar de manera más clara las estructuras epidérmicas que presentan las hojas, tal como células normales, estomas, tricomas, entre otros elementos propios y característicos que permiten la identificación de las especies vegetales.

II. OBJETIVO

Preparar láminas de droga vegetal fresca o seca que posibiliten su estudio microscópico.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de la técnica de diafanizado de hojas.

IV. DISTRIBUCION

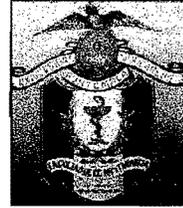
- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Cristalizador
- Caja de petri de vidrio
- Portaobjetos



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Diafanizado de hoja 2/3
POE No. 2 Enero de 2011



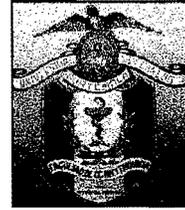
- Cubreobjetos
- Alcohol al 96 o 95°
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hipoclorito de sodio al 50%
- Agua desionizada o destilada
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Colocar al menos cuatro hojas de la especie vegetal en un cristalizador con alcohol al 96°.
- Llevar a ebullición durante 30 minutos aproximadamente, hasta que ya no se observe coloración verde en las hojas.
- Pasar las hojas a una solución de partes iguales de alcohol al 96° e hidróxido de sodio al 5%.
- Llevar a ebullición por 10 minutos.
- Lavar el material con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quede totalmente limpia.
- Pasar a una caja de petri que contenga una solución de hipoclorito de sodio al 50% hasta que las hojas queden blanco-transparentes.
- Lavar el material tratado con agua destilada varias veces hasta eliminar el hipoclorito de sodio.
- Proceder a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Trasladar cada hoja a un portaobjetos, cuidando que unas preparaciones sean de la cara abaxial y otras de la cara adaxial.
- Agregar de dos a tres gotas de gelatina-glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

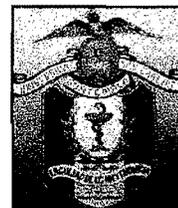


LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHILOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Diafanizado de hoja 3/3
POE No. 2 Enero de 2011



REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.



COLORACIÓN CON SAFRANINA

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El estudio microscópico de una droga vegetal por medio de distintas coloraciones permite identificar las estructuras que la conforman. La safranina es un colorante que se usa en microscopia para colorear los tejidos vegetales y diferenciarlos, las partes lignificadas y la cutícula se tiñen de color rojo intenso y las paredes celulósicas toman color rosado.

II. OBJETIVO

Obtener preparaciones vegetales para el análisis microscópico de estructuras histológicas.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de coloración con safranina.

IV. DISTRIBUCION

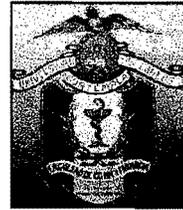
- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Vidrio de reloj
- Aguja de disección



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Coloración con safranina 2/2
POE No. 3 Enero de 2011



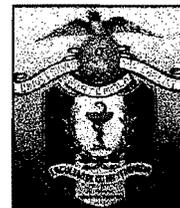
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Seleccionar el material vegetal a colorear.
- Sumergir el material en un vidrio de reloj conteniendo Safranina al 1% durante aproximadamente 3 minutos.
- Retirar con ayuda de una aguja de disección el material vegetal que fue coloreado.
- Trasladar a un portaobjetos.
- Agregar una a dos gotas de gelatina-glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Soria R. Farmacobotánica. Perú: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 1994. 48p.



DISOCIADO DEBIL

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El disociado débil es utilizado principalmente para hojas, tallos herbáceos y cortezas comerciales. La finalidad es disgregar o separar los tejidos de un órgano vegetal específico y así poder observar por separado las células y estructuras que lo conforman que junto con otras técnicas microscópicas especializadas brinda un medio valioso que asegura la calidad de la droga.

II. OBJETIVO

Elaborar preparaciones para la observación microscópica de estructuras características de drogas vegetales frescas o secas para el control de calidad.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización del disociado débil de hojas.

IV. DISTRIBUCION

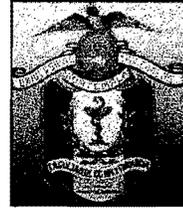
- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Cristalizador



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Disociado débil 2/2
POE No. 4 Enero 2011



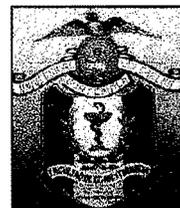
- Vidrio de reloj
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Hoja de afeitar
- Agua destilada
- Hidróxido de sodio al 5%
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Cortar finamente el material vegetal.
- Colocar el material cortado finamente en un cristalizador que contenga solución de hidróxido de sodio al 5%.
- Hervir durante 5 minutos.
- Lavar con agua destilada hasta que el líquido quede limpio.
- Proceder a colorear según técnica de coloración con safranina.
- Trasladar una pequeña cantidad del material a un portaobjetos.
- Agregar dos gotas gelatina glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.

REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.



DISOCIADO FUERTE

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

El disociado fuerte es utilizado principalmente para tallos, raíces y tegumentos de semillas comerciales. La finalidad de esta técnica es disgregar o separar los tejidos de un órgano vegetal específico y así poder observar por separado las células y estructuras que lo conforman. Es de mucha utilidad en el control de calidad de la materia vegetal

II. OBJETIVO

Elaborar preparaciones para la observación microscópica de estructuras características de drogas vegetales frescas o secas para el control de calidad.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización del disociado fuerte en materia vegetal.

IV. DISTRIBUCION

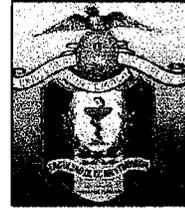
- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Cristalizador



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Disociado fuerte 2/3
POE No. 5 Enero 2011



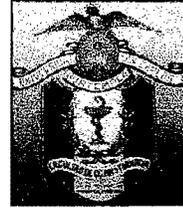
- Vidrio de reloj
- Aguja histológica
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Hoja de afeitar
- Agua destilada
- Hidróxido de potasio al 5-10%
- Ácido crómico al 25%
- Safranina al 1%
- Gelatina-glicerina
- Esmalte para uñas

VI. PROCEDIMIENTO

- Cortar finamente el material vegetal.
- Colocar el material cortado finamente en un cristizador que contenga solución de hidróxido de potasio al 10%.
- Hervir durante 5-10 minutos.
- Lavar con agua destilada hasta que el líquido quede limpio.
- Colocar el material así tratado en un tubo de ensayo con ácido crómico al 25% y dejar actuar durante 30 min o más.
- Retirar cuando al pinchar el material tenga consistencia de manteca.
- Lavar varias veces.
- En el último lavado agitar fuertemente el tubo de ensayo contra la palma de la mano, de manera que todo el material se disgrega contra las paredes del mismo.
- Trasladar una pequeña cantidad del material a un portaobjetos con ayuda de un pincel.
- Añadir una gota de safranina al 1% en agua.
- Agregar dos gotas gelatina glicerina.
- Cubrir suavemente con un cubreobjetos procurando no originar burbujas.
- Sellar los extremos del cubreobjetos utilizando esmalte para uñas.



**LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Técnicas de caracterización
micromorfológica e histológica de plantas medicinales
Dísociado fuerte 3/3
POE No. 5 Enero 2011**



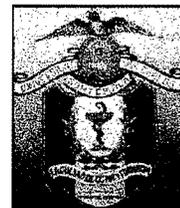
REFERENCIAS

- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.

Anexo No. 6



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Tamizaje fitoquímico
Pruebas histoquímicas 1/5
POE No.6 Enero de 2011



PRUEBAS HISTOQUIMICAS

Elaborado por: Br. Mirna Castillo García
Br. Mercy Pérez Rodríguez

Fecha: Enero de 2011

Revisado por: M.A. Margarita Paz

Fecha: Enero de 2011

Autorizado por: Licda. María Eugenia Paredes

Fecha: Enero de 2011

I. DEFINICION

Los métodos histoquímicos determinan cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta, tal como algunos metabolitos secundarios, estos pueden evidenciarse en tejidos vegetales con la preparación de infusiones de la droga cruda o a través de cortes transversales del tejido a mano alzada aplicando algunas reacciones de coloración. Los métodos pueden aplicarse tanto a materia fresca como seca, siendo preferible en estado fresco.

II. OBJETIVO

Evidenciar la presencia de metabolitos secundarios en tejidos vegetales.

III. RESPONSABLE

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este POE, este debe ser ejecutado de forma correcta para la realización de métodos histoquímicos.

IV. DISTRIBUCION

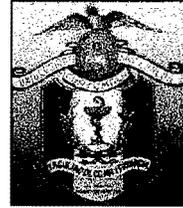
- Auxiliar de laboratorio
- Estudiantes

V. MATERIALES Y EQUIPO

- Portaobjetos
- Cubreobjetos



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOLOGÍA
Tamizaje fitoquímico
Pruebas histoquímicas 2/5
POE No.6 Enero de 2011



- Vidrio de reloj
- Agua destilada
- Reactivo de dragendorff
- Reactivo de naranja G
- Alcohol iodado
- Acido acético
- Acido clorhídrico diluido
- Lugol
- Clorioduro de cinc
- Solución de yodo al 0.1 mol/l
- Reactivo de sudan IV
- Alcohol al 70°
- Floroglucina
- Azul de cresil al 1%
- Rojo de rutenio al 0.1%
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato férrico

VI. PROCEDIMIENTO

- Realizar cortes transversales del tejido vegetal en estudio.
- Colocar el corte seleccionado sobre un extremo del portaobjetos.
- Proceder a investigar la presencia del compuesto químico de interés.

Alcaloides

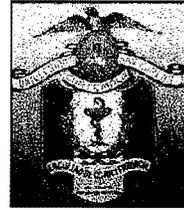
- Agregar una gota del reactivo de dragendorff.
- Dejar actuar por unos minutos.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- La presencia de un precipitado rojo ladrillo se considera positiva.

Aleuronas

- Agregar una gota de naranja G.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Tamizaje fitoquímico
Pruebas histoquímicas 3/5
POE No.6 Enero de 2011



- Los cristaloides de aleurona se tiñen de color rojo-anaranjado mientras el globoide desaparece poco a poco.
- Remover el cubreobjetos.
- Agregar una gota de alcohol iodado.
- Observar al microscopio.
- Los granos de aleuronas se colorean de amarillo-marrón a marrón.

Almidón

- Agregar una gota de lugol.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- La presencia de gránulos color azul o azul-violáceo en el citoplasma de las células se considera positivo.

Carbonato de calcio

- Agregar una gota de ácido acético o ácido clorhídrico diluido.
- Los cristales o depósitos de carbonato de calcio se disuelven lentamente observando la presencia de efervescencia.

Celulosa

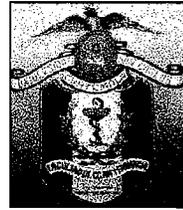
- Agregar una gota de cloruro de cinc.
- Dejar actuar unos minutos.
- Agregar una gota de solución de yodo al 0.1 mol/l.
- Dejar actuar unos minutos.
- Remover el exceso de reactivo con papel filtro.
- Agregar una gota de ácido sulfúrico diluido.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Las paredes celulósicas se tiñen de azul o azul violeta.

Grasas y aceites

- Agregar una gota de reactivo sudan IV.
- Dejar actuar por 10 minutos.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITOHISTOLOGÍA
Tamizaje fitoquímico
Pruebas histoquímicas 4/5
POE No.6 Enero de 2011



- Lavar, transfiriendo a un vidrio de reloj que contenga alcohol al 70°.
- Colocar el corte en un portaobjetos y cubrir con un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Una coloración roja o rosada se considera positivo.

Inulina

- Agregar una gota de 1-naftol y una gota de ácido sulfúrico.
- Colocar un cubreobjetos.
- Observar al microscopio.
- Los cristales de inulina se observan de color rojo-amarronado.

Lignina

- Agregar una gota de floroglucina.
- Flamear suavemente.
- Retirar de la llama y colocar por el borde del cubreobjetos una gota de ácido clorhídrico 25%.
- Las paredes lignificadas se tiñen de rojo.

Pectato y sustancias pécticas

- Agregar una gota de rojo de rutenio al 0.1%.
- Los pectatos y sustancias pécticas se tiñen de color rosado.

Mucílagos

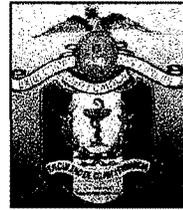
- Agregar una gota de azul de cresil al 1%.
- Transferir el corte a otro portaobjetos con una gota de agua destilada.
- Observar al microscopio.
- Una coloración azul franca se considera positivo.

Saponinas

- Agregar una gota de ácido sulfúrico concentrado.
- Observar al microscopio.



LABORATORIO DE BIOENSAYOS
DEPARTAMENTO DE CITO HISTOLOGÍA
Tamizaje fitoquímico
Pruebas histoquímicas 5/5
POE No.6 Enero de 2011



- La aparición de una coloración amarilla inmediatamente, que a los 30 minutos cambia a rojo y finalmente a azul verdoso o lila se considera positivo.

Taninos

- Agregar una gota de sulfato férrico.
- Dejar actuar por 2-3 minutos.
- Una coloración azul-verdosa se considera positivo.

REFERENCIAS

- Rosales C. et al. Manual de Laboratorio Farmacobotánica I. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 2001. 88p.
- Gattuso MA. Gattuso SJ. Manual de Procedimientos para el Análisis de Drogas de Polvo. Argentina: Editorial de la Universidad Nacional de Rosario. 1999. 50p.
- Solís PN. et al. Manual de Caracterización y análisis de drogas vegetales y productos fitoterapéuticos. Proyecto desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y producción de fitoterápicos. OEA/ AICD/ AE 089/03.



EXTRACCIÓN CONTINUA POR PERCOLACIÓN

Elaborado por: Licda. Sully Cruz Fecha: febrero, 2005

Revisado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

Autorizado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

I. Definición:

La percolación consiste en hacer pasar el disolvente a través de la droga vegetal hasta su extracción completa. La percolación simple comprende la extracción exhaustiva de la droga con el disolvente siempre renovado. En pequeña escala, la percolación se realiza en aparatos denominados percoladores, de cuerpo cilíndrico o cónico, provistos de un grifo en la parte inferior, para regular el flujo de solvente. La capa de droga debe ser 5 veces el diámetro medio del equipo según la Farmacopea Alemana

II. Objetivo:

Proporcionar instrucciones para la extracción continua de una droga vegetal utilizando la percolación.

III. Responsable:

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para extraer los principios activos de una droga vegetal utilizando el equipo seleccionado (Percolador).

IV. Distribución:

Auxiliar de laboratorio.
Estudiantes.

V. Materiales y equipo necesarios:

Percolador de vidrio o acero inoxidable.
Balanza.
Algodón.
Papel filtro.
Vasos de precipitar.
Erlenmeyers.



VI. Procedimiento:

- En un percolador previamente limpio y seco, colocar un poco de algodón en la parte inferior y papel filtro cortado de acuerdo al diámetro del percolador.
- Pesar la cantidad de materia vegetal a utilizar de acuerdo al tamaño del percolador.
- Humedecer el material vegetal con el disolvente adecuado para la extracción, utilizando un vaso de precipitar.
- Transferir todo el material al percolador y agregar disolvente hasta cubrir el material vegetal.
- Dejar reposar el tiempo necesario para llevar a cabo la extracción, esto dependerá del material vegetal (18-24 horas).
- Abrir la llave de la parte inferior y dejar gotear el líquido a una velocidad adecuada.
- Recoger el líquido en un erlenmeyer, añadir suficiente disolvente extra, según se requiera, hasta obtener el volumen de disolvente agregado al inicio.
- El material sólido que ha quedado, se presiona fuertemente y el líquido obtenido se añade al percolado obtenido anteriormente.
- La solución obtenida puede utilizarse para producir extractos o tinturas. Para preparar los primeros, el líquido obtenido (menstruo) se concentra en rotavapor o un equipo similar y se repite la operación hasta que se agote la droga con el disolvente recuperado; las tinturas solo se ajustan a volumen en función de la concentración deseada (1:5, 1:8 o 1:10)

Referencias:

- KUKLINSKI, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega. 515p.
- MEDINILLA, B. (1996). Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Guatemala: USAC. 38p.
- REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (2002). 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801p.
- SHARAPIN, N. (2000) Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247p.

**CONCENTRACIÓN USANDO ROTAVAPOR**Elaborado por: Licda. Sully Cruz Fecha: febrero, 2005Revisado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005Autorizado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005**I. Definición:**

La concentración representa la etapa siguiente al proceso de extracción. El proceso de concentración busca aumentar el contenido de sólidos totales en el extracto con la finalidad de

- e) alcanzar un determinado contenido de residuo seco,
- f) producir extractos blandos
- g) como etapa preliminar en la producción de extractos duros,
- h) los extractos también pueden ser concentrados para la extracción en contracorriente con disolventes no miscibles, con miras a la fabricación de extractos purificados o el aislamiento de sustancias puras.

El equipo necesario para la concentración con recuperación de disolventes es el evaporador rotatorio, cuyo funcionamiento se basa en los siguientes principios: (1) se coloca la muestra en un balón de evaporación a 40°C que rota a una velocidad constante produciendo una película que aumenta la superficie de evaporación; (2) con la ayuda de una bomba se genera un vacío entre 30 y 300 mbar que facilita la evaporación sin necesidad de aumentar la temperatura; (3) el vapor del disolvente es condensado en el refrigerante que está conectado a un sistema de enfriamiento que luego se colecta en un balón colector.

II. Objetivo:

Proporcionar instrucciones para el manejo del evaporador rotatorio en la concentración de extractos.

III. Responsable:

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para el buen uso del rotavapor.

IV. Distribución:

Auxiliar de laboratorio.
Estudiantes.

V. Materiales y equipo necesarios:

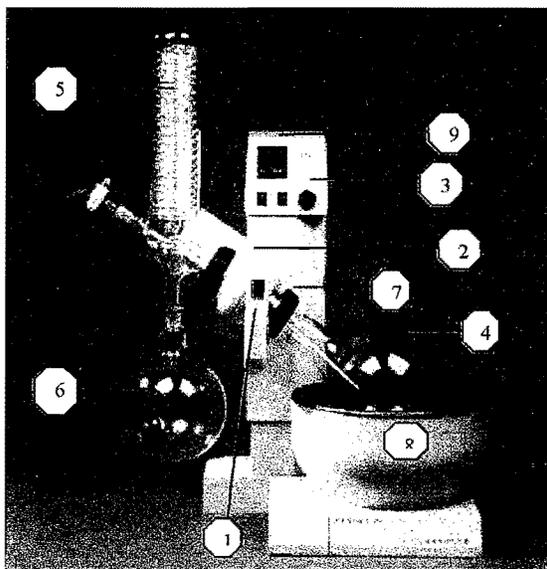
Rotavapor (Balón de evaporación, condensador, bomba de vacío, refrigerante y balón de colecta).
Sistema de enfriamiento o circulación de agua.



Disolvente orgánico (hexano, pentano o xileno).
Balón de 1000 ml.

VI. Procedimiento:

- Verificar que estén conectadas todas las conexiones eléctricas.
- Colocar el balón colector y fijarlo con la llave respectiva.
- Revisar el nivel de agua del baño de calentamiento.
- Encender el baño mantener la temperatura entre 50-60°C, dependiendo del equipo puede haber pérdidas de 10-20°C entre el baño de calentamiento y el interior del balón de evaporación, en todo caso el balón de evaporación no deberá tener una temperatura mayor de 40°C
- Revisar que la llave de alimentación del refrigerante esté cerrada.
- Colocar el balón con la muestra y sujetar al vástago con la llave correspondiente.
- Encender el botón que permite girar el balón que contiene la muestra a una revolución adecuada.
- Conectar un sistema de enfriamiento o por lo menos de circulación de agua del chorro.
- Encender la bomba de vacío durante el tiempo necesario para iniciar la destilación.
- Cuando haya iniciado la destilación, apagar la bomba de vacío.
- Encender la bomba de vacío cuantas veces sea necesario hasta que se haya agotado el disolvente del balón de evaporación o ya no destile ningún líquido, lo que querrá decir que el vacío de nuestra bomba no es suficiente para evaporar la mezcla de disolventes contenida en el balón de evaporación.



1. Alzador rápido.
2. Accionamiento.
3. Cabezal electrónico.
4. Matraz de evaporación.
5. Módulo de vidrio.
6. Matraz receptor.
7. Sistema de hermetización.
8. Baño calefactor.
9. Módulo indicador de velocidad de rotación y temperatura del vapor.
10. Control de Vapor
11. Conjunto de válvulas
12. Alzador rápido.
13. Accionamiento.
14. Cabezal electrónico.
15. Matraz de evaporación.
16. Módulo de vidrio.
17. Matraz receptor.
18. Sistema de hermetización.
19. Baño calefactor.
20. Módulo indicador de velocidad de rotación y temperatura del vapor.
21. Control de Vapor
22. Conjunto de válvulas

Recomendaciones:

Aplicar vaselina al vástago rotatorio, a todas las llaves y juntas esmeriladas.
Mantener el sistema de refrigeración a baja temperatura, con recambio periódico de los hielos.



LIPRONAT - Manual de Operaciones

Concentración 3/3

PEO No. 2 febrero 2005

Referencias:

KUKLINSKI, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega. 515p.

Manual del Fabricante Buchi Flawil: Buche Laboratorio. 44p.

MEDINILLA, B. (1996). Manual de Laboratorio de Farmacognosia. Guatemala: USAC. 38p.

SHARAPIN, N. (2000) Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247p.



TAMIZAJE FITOQUIMICO

Elaborado por: Licda. Sully Cruz Fecha: febrero, 2005

Revisado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

Autorizado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

I. Definición:

El tamizaje fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Consiste en la extracción de la planta con disolventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y análisis por cromatografía en capa fina. Debe permitir la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo.

La cromatografía en capa fina consiste en la separación de los componentes de una mezcla a través de la migración diferencial sobre una capa fina de adsorbente, retenida sobre una superficie plana. Una solución de la muestra que va a ser analizada se aplica por medio de un capilar sobre la superficie de un adsorbente inerte (silica, alúmina, etc) distribuido sobre una placa de vidrio o aluminio. La placase coloca verticalmente dentro de una cámara previamente saturada con el vapor del eluente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entre en contacto con la fase móvil. El eluente migra por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los diversos componentes de la mezcla. Después que ha ocurrido, se evapora el eluente y la placa se analiza utilizando luz ultravioleta o luz visible, o aplicando reactivos que dan como resultado reacciones de coloración con las sustancias contenidas en la mezcla analizada.

Rf: Factor de retención, es la medida de la migración de una sustancia determinada en un disolvente dado.

Rf: $\frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia}}{\text{Distancia recorrida por el disolvente}}$

II. Objetivo:

Proporcionar instrucciones para la identificación de los metabolitos secundarios presentes en las diferentes especies vegetales, empleando técnicas macro y semimicro y cromatografía en capa fina.

III. Responsable:

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para identificar los metabolitos secundarios presentes en una especie vegetal.



IV. Distribución:

Auxiliar de laboratorio.

Estudiantes.

V. Materiales y equipo necesarios:

Reactivos específicos para cada metabolito

Disolventes orgánicos según el ensayo

Ácidos, bases, disolventes y estándares según el caso

Cristalería (vasos de precipitar, tubos de ensayo, erlenmeyer, micropipetas, pipetas, probetas)

Perillas de succión

Papel filtro

Maño María

Cámaras cromatográficas

Cromatofolios de aluminio de sílica gel 60 F254 o placas de vidrio

Micropipetas de 5 microlitros o capilares

Asperjador de vidrio

Estufa

Agitador magnético

Lámpara de luz UV

Regla

VI. Procedimiento:

Investigación de alcaloides:

Ensayos macro y semimicro: Pesar 1 g de material vegetal. Agregar 2 gotas de solución de hidróxido de amonio al 10% (p/v), luego añadir 25 ml de metanol a 60 °C. Filtrar con papel filtro Whatman 1 y acidificar el filtrado con ácido clorhídrico 2 N. La solución resultante dividirla en 4 tubos y evaluar de la siguiente manera:

Tubo 1: agregar 5 gotas del reactivo de Mayer's (color blanco a crema)

Tubo 2: agregar 5 gotas del reactivo de Dragendorff (color rojo a naranja)

Tubo 3: agregar 5 gotas del reactivo de Wagner (color marrón)

Tubo 4: testigo

Usar como estándar soluciones al 1% de atropina y papaverina. Observar durante 2 horas la existencia de precipitados, turbidez o precipitación de complejos en los tubos.

Preparación de Reactivos:

Mayer's (yoduro de mercurio y potasio)

a. 1.36 g de $HgCl_2$ /60 ml H_2O

b. 5 g KI /10 ml H_2O

c. Mezclar y diluir a 100 ml



Dragendorff (yoduro de bismuto y potasio)

- 8 g $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ /20 ml HNO_3
- 27.2 g KI/50 ml H_2O
- Mezclar, reposar, decantar sobrenadante. Diluir a 100 ml

Wagner (yodo-yoduro de potasio)

- 1.27 g I_2 + 2 g KI/5 ml H_2O
- Diluir a 100 ml

Cromatografía en capa fina: Pesar 1 g de material vegetal seco y molido, agregar 1 ml de hidróxido de amonio al 10% (p/v) y extraer con 5ml de metanol. Colocar en baño maría a 60 °C durante 5 minutos. Filtrar y concentrar. Aplicar en una placa de silica gel 60 F₂₅₄, utilizando como estándar una solución de atropina y papaverina al 1 por ciento en metanol.

Fase móvil: tolueno-acetato de etilo-dietilamina (70:20:10); acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10), cloroformo-dietilamina (90:10); acetona-agua-amonio concentrado (90:7:3)

Detección:

Sin tratamiento químico: UV 254 nm fluorescencia, UV 365 nm algunos fluorescen azul o amarillo.

Reactivo de Dragendorff: zonas cafés o naranjas en vis, los colores no son estables.

Investigación de flavonoides y antocianinas:

Ensayos macro y semimicro: Extraer 3 g de material vegetal pulverizado con 10 ml de etanol o metanol al 80 por ciento, filtrar y concentrar. Enfriar a temperatura ambiente y triturar el residuo con 15 ml de éter de petróleo hasta que la extracción sea incolora. Disolver el residuo en 30 ml de metanol al 80 por ciento, filtrar y dividir en 5 tubos:

Tubo 1: agregar 0.5 ml de ácido sulfúrico concentrado

Tubo 2: agregar 3 a 5 gotas de cloruro férrico al 10 por ciento (p/v)

Tubo 3: agregar 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado y calentar en baño de maría por 5 minutos (prueba de leucoantocianinas)

Tubo 4: agregar magnesio metálico y 0.5 ml de ácido clorhídrico concentrado

Tubo 5: agregar un álcali a un extracto acuoso

Tubo 6: agregar solución de ácido bórico en anhídrido acético

Tubo 7: testigo

Evaluar las reacciones, cambios de color y/o formación de precipitado comparados con el testigo. Desarrollo inmediato de color flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta), flavononas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); isoflavononas, chalconas y auroras no dan coloración.

Cromatografía en capa fina: Extraer 1 g de material vegetal seco pulverizado con 10 ml de metanol por 5 minutos en baño de maría a 60 °C. Filtrar la solución y aplicar sobre las cromatoplasmas de silicagel 60 F₂₅₄. Como estándar emplear solución de flavonoides al 0.05 por ciento en metanol (10 microlitros) (Quercetina, rutina, ácido clorogénico, hiperósido).



Fase móvil: acetato de etilo-ácido fórmico-ácido acético glacial-agua (100:11:11:27), n-butanol-ácido acético-agua (40:7:3:30:10)

Detección:

Sin tratamiento químico: UV 254 nm fluorescencia, zonas azules o amarillas. UV 365 nm, dependiendo la estructura fluorescen amarillo, azul o verde.

Reactivo de Productos Naturales (NP/PEG). Fluorescencia intensa en UV-365 nm

Solución 1: solución metanólica al 1 por ciento de difenilboriloxietilamina (NP)

Solución 2: solución etanólica al 5 por ciento de polietilenglicol 4000 (PEG)

Aplicar a la placa vapores de amoniaco para intensificar el color de las manchas

Investigación de antraquinonas:

Prueba de Bornträger: Extraer 3g de material vegetal pulverizado con 10 mL de etanos al 89 por ciento, filtrar y concentrar en baño de maría (60°C). Disolver el residuo con 30 mL de agua destilada y filtrar. Extraer con 10 mL de benceno. A la fase bencénica añadir 5 mL de solución de test de amonio y agitar. Observar cambios de color en la fase alcalina (color rojo, rosado: positivo).

Prueba de Bornträger modificado: Calentar 0.3 g de material vegetal pulverizado con 10 mL de hidróxido de potasio alcohólico 0.5 N y 1 mL de peróxido de hidrógeno al 3 por ciento y calentar 10 minutos en baño maría a 60°C. Añadir 10 gotas de ácido acético glacial para acidificar. Extraer con 10 mL de benceno. A la capa bencénica adicionar 5 mL de solución de prueba de amonio y agitar. Observar cambios de color en la fase alcalina (color rojo, rosado: positivo).

Cromatografía en capa fina: Extraer 0.5 g de material vegetal seco pulverizado con 5 mL de metanol en baño maría (60°C) por 5 minutos. Filtrar y aplicar 10 µL en la cromatoplaque de silicagel 60F₂₅₄.

Estándar: solución al 0.1 por ciento en metanol de antraquinonas (10 µL). (Aloína, flangulina A/B, glucofrangulina A/B y sus agliconas, reina, aloe-emodina, extracto de sen)

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (100:17:13), acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10).

Detección:

Sin tratamiento químico: UV 254 nm fluorescencia, UV 365 nm fluorescencia amarilla o rojo café.

Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10 por ciento.

Antraquinonas: zonas rojas en visible y fluorescencia roja en UV-365 nm

Antronas y antranolas: zonas amarillas en visible y fluorescencia amarilla en UV-365 nm.

Investigación de cumarinas:

Ensayos macro y semimicro: Medir 5 mL de extracto vegetal metanólico. Agregar 1mL de agua destilada hirviendo. Con un capilar aplicar 2 manchas en papel filtro. A una mancha agregar 1 gota de hidróxido de potasio 0.5 N, observar bajo luz UV de 365nm (fluorescencia azul o verde: positivo).

Cromatografía en capa fina: A 1 g de material vegetal adicionar 10 mL de metanol y calentar 30 minutos en baño de maría. Filtrar y evaporar hasta 1 mL. Aplicar 20 µL en una cromatoplaque de sílica gel 60 F₂₅₄. Utilizar como estándar canela en metanol al 1 por ciento, umbeliferona, ácido p-cumárico, cumarina).



Fase móvil: tolueno-acetato de etilo (93:7); tolueno-éter (1:1 saturado con 10% de ácido acético, 50 mL de tolueno y 50 mL de éter son mezclados durante 5 min con 50 mL de ácido acético al 10%, se filtra y descarta la fase de abajo, y la mezcla de tolueno-éter es usada).

Detección:

Sin tratamiento químico UV 254 nm fluorescencia. UV 365 nm todas las cumarinas muestran una intensa fluorescencia azul o verde-azul.

Solución etanólica de hidróxido de potasio al 5 o 10%. UV-365 nm fluorescencia azul o verde.

Investigación de cardenólicos y bufadienólicos:

Presencia de lactonas insaturadas. Extraer 10 g de material vegetal con 30 mL de etanol o metanol al 80% y filtrar. Colocar tres manchas del extracto (0.1, 0.2, 0.3 mL) sobre un papel filtro. Secar y agregar unas gotas de reactivo Kedde. Secar el papel filtro y observar cambio de color (mancha o anillo púrpura: positivo). Usar como estándar un extracto de *Digitalis curpurea* en metanol al 80%.

Presencia de azúcares 2-desoxigenadas: Evaporar 10 mL del extracto etanólico o metanólico, eliminar los pigmentos coloreados con éter de petróleo. Secar el residuo y agregar 3mL de reactivo Keller-Killiani. Pasar a un tubo, mezclar y resbalar 1-2 mL de ácido sulfúrico concentrado en la pared del tubo. Observar la formación de un anillo en la interfase (anillo púrpura: positivo).

Cromatografía en capa fina: A 1 g de material vegetal agregar 20 mL de etanol al 50% y mantener en reflujo durante 15 minutos. Dejar enfriar y filtrar, el filtrado se trata con ácido acético glacial. Extraer en 3 porciones de 15 mL de diclorometano. Los extractos se filtran sobre sulfato de sodio anhidro y se evaporan. Disolver con 1 mL de diclorometano/etanol (1:1) y aplicar 30-50 μ L en la cromatoplaque de silicagel 60 F₂₅₄. Estándar digoxina 5 mg/2 mL de metanol (20 μ L), lanatósido, A, B, C; oleandrin, K-strophantin.

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (100:13.5:10) acetato de etilo-metanol-agua (81:11:8), acetato de etilo-metanol-etanol-agua (81:11:4:8).

Detección:

Sin tratamiento químico: Fluorescencia por cardenólidos en UV-265 nm, la mayor fluorescencia es debida a los bufadienólidos. Los glicósidos cardíacos no fluorescen en UV-365 nm.

Detección del anillo lactónico de los cardenólidos: reactivo de Kedde, zona rosa o azul violeta en vis, los bufadienólidos no reaccionan.

Reactivo de Kedde: 5 mL de ácido 3,5 dinitrobenzoico al 3% en etanol, mezclado con 5 mL de NaOH 2 M.

Investigación de esteroides o triterpenoides:

Reacciones de color

Liebermann Burchard: Aplicar unas gotas de ácido acético y 3 ml de anhídrido acético-ácido sulfúrico (50:1) en la que las saponinas triterpenoidales dan color rosado o púrpura.

Resultados (verde, azul verdoso) posibles esteroides conteniendo 2 enlaces C=C conjugados o formados por deshidratación con ácido sulfúrico.

Ácido tricloroacético: Se le añade a la muestra unos cristales de ácido tricloroacético.



Resultado: color naranja, rojo, rojo oscuro, triterpenos tetracíclicos y esteroides desarrollan color a 60 °C, triterpenos pentacíclicos a 110 °C.

Carr-Price: 1 mg de muestra en cloroformo se le agrega 2 ml de tricloruro de antimonio al 30% en cloroformo.

Resultado: color azul, posibles derivados del colestano con dieno o trieno potencial en anillos A y B

Investigación de saponinas

Prueba de espuma:

Tubo 1: 100 mg de material vegetal pulverizado y seco

Tubo 2: 2 ml de control de saponinas (0.5%)

Tubo 3: 2 ml de agua

A cada tubo se le adiciona a 10 ml de agua destilada. Calentar en baño de maría (60 °C) durante 30 minutos. Enfriar, tapar los tubos, agitar vigorosamente 30 a 40 segundos. Dejar reposar los tubos durante 30 minutos, observar la formación de capa de espuma. Si una capa de espuma mayor de 3 cm persiste en la superficie líquida después de 30 minutos se presume la presencia de saponinas.

Cromatografía en capa fina: 2 g de material vegetal seco, se extraen con 10 ml de etanol al 70% con reflujo por 10 minutos. Evaporar a 5 ml y proceder a aplicar 25-40 microlitros en una cromatoplaaca de silicagel 60 F₂₅₄. Estandar de saponinas al 0.1 por ciento en metanol (10 microlitros)

Fase móvil: cloroformo-metanol-agua (64:50:10), n-butanol-ácido acético (50:10:40)

Detección:

Reactivo de sangre, zonas hemolíticas blancas en fondo rojo

(Reactivo de Liebermann-Burchard: UV-365 o VIS zonas azules y verdes de saponinas esteroidales, rojas y violetas de triterpenoides)

(Reactivo de Komarowsky: zonas azules, amarillas y rojas). (Vainillina-ácido sulfúrico y arisaldehído-ácido sulfúrico: zonas azules, violetas, amarillentas).

Investigación de principios amargos:

Cromatografía en capa fina: calentar 1 g de material vegetal con 10 ml de metanol en baño de María a 60 °C por 10 minutos. Evaporar y filtrar a 2 ml. Aplicar en la cromatoplaaca. Estándar: artemisina al 1 por ciento en metanol (20 microlitros).

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (77:15:8) y cloroformo-metanol (95:5)

Detección: vainillina-ácido sulfúrico, anisaldehído-ácido sulfúrico. Zonas rojas-violetas, cafés-rojas, azules-verdes.

(Reactivo de Liebermann-Buchard: U-365 nm: gris, café; VIS: café oscuro, gris).

Investigación de taninos:

Ensayos macro y semimicro: Extraer 10 g de material vegetal con 30 ml de etanol O metanol al 80 por ciento, filtrar y evaporar a sequedad. Añadir 25 ml de agua caliente al residuo y agitar con varilla y dejar enfriar. Agregar 1 ml de solución de cloruro de sodio al 10 por ciento y filtrar. Adicionar 3 ml del filtrado a 4 tubos de ensayo:

Tubo 1: testigo



Tubo 2: agregar 4 a 5 gotas de solución al 1 por ciento (p/v)

Tubo 3: agregar 4 a 5 gotas de gelatina-sal (1 por ciento de gelatina y cloruro de sodio al 10%)

Tubo 4: agregar 3 a 4 gotas de solución de cloruro férrico al 10 por ciento (p/v)

Observar la formación de precipitado y/o cambio de coloración

Con cloruro férrico: grisáceo-negro: catecol; negro-azulado: pirogalol)

Investigación de glicósidos cianogénicos:

Prueba de Guignard: colocar 2 a 5 g de material vegetal pulverizado en un erlenmeyer de 125 ml y humedecer con agua; adicionar 1 ml de cloroformo. Aparte, introducir una tira de papel Whatman No. 1 en picrato de sodio (recién preparado) y posteriormente secar. La tira de papel húmedo insertarla en el erlenmeyer que contiene el material vegetal evitando que toque las paredes y dejar a una distancia de 1 cm de la muestra. Doblar el papel y tapar el erlenmeyer con un corcho. Calentar en baño de maría a 37 °C durante 3 horas o más. Observar cualquier cambio de color en el papel (de color amarillo a rojo o rojo-café).

Investigación de aceites volátiles

Cromatografía en capa fina:

Método A: Extraer 1 g de material vegetal pulverizado con 10 ml de diclorometano agitando por 15 minutos. Filtrar y evaporar en baño maría (60 °C) a sequedad.

Disolver en 1 ml de tolueno y aplicar 20-50 microlitros en cromatoplaque de silicagel 60 F₂₅₄

Método B: Pesar 10-50 g (dependiendo del tipo de droga) de material vegetal y destilar con arrastre de vapor por 1 hora. Recolectar el aceite esencial en xileno. Diluir la solución de aceite en xileno con tolueno 1:5 o si es muy concentrada 1:10 y aplicar 5 microlitros (1:10) en cromatoplaque de silicagel 60 F₂₅₄.

Estándar: solución de tolueno 1:30 de mentol, timol, anisaldehído, anetol, 1,8-cineol.

Fase móvil: tolueno-acetato de etilo (93:7)

Detección: anisaldehído-ácido sulfúrico, vainillina-ácido sulfúrico. Zonas azules, verdes, rojas y cafés en visible.

Investigación de Esteroles insaturados:

Ensayo macro y semimicro: Extraer 10 g de material vegetal pulverizado con 30 ml de etanol o metano al 80%. Filtrar y concentrar a sequedad. Remover pigmentos vegetales con porciones de 10 ml de éter de petróleo hasta que el éter salga incoloro. Adicionar 10 ml de benceno y agitar durante unos minutos. Decantar en un tubo y secar con sulfato de sodio anhidro. Filtrar y evaporar a sequedad. Agregar 10 ml de cloroformo, secar con sulfato de sodio anhidro, filtrar y dividir el filtrado en 3 tubos:

Tubo 1: Agregar 3 gotas de anhídrido acético y una gota de ácido sulfúrico concentrado (Liebermann-Buchard).

Tubo 2: Ensayo de anillo agregar ácido sulfúrico concentrado (Prueba de Salkowski)

Tubo 3: Testigo.



Usar como estándar una solución de colesterol en cloroformo 0.1%. Observar cambios de colores inmediatos y/o graduales (rojo, rosado, violeta para esteroides insaturados) durante un periodo de una hora.

Prueba de anillo: En presencia de esteroides insaturados, formación de un anillo rojo cereza en la interfase.

Investigación de Sesquiterpenlactonas:

Prueba de Legal: 1-2 mg de muestra en agua o etanol se le agrega 1 ml de solución fresca de nitroprusiato de sodio 0.5% en agua y 1-4 gotas de KOH 2N. Se presenta colores característicos rojo oscuro, para lactonas alfa y beta insaturadas.

Prueba de Baljet:

Preparación de reactivo:

- a. 1 g de ácido pícrico en etanol al 95%
- b. 10 g de NaOH en 100 ml de agua

Se mezcla a y b y se añade a la muestra unas gotas del reactivo, se presenta un color rojo claro a oscuro.

Cromatografía en capa fina:

Fase móvil: Cloroformo: éter etílico (5:1), cloroformo: metanol (99:1), éter de petróleo, cloroformo, acetato de etilo (2:2:1)

Detección: Se pueden emplear diferentes reveladores tales como: Vapores de yodo, solución acuosa de permanganato de potasio al 5%, ácido sulfúrico concentrado o al 50%, vainillina al 1% en etanol, luego del calentamiento de la placa por 5 min 100-105 °C aparecerán manchas verdes, amarillas, marrones, rojas o azules.

Investigación de Aceites grasos:

Examinar por cromatografía en capa fina, utilizando como sustancia de recubrimiento un gel de sílice octadecilsililado adecuado para cromatografía en capa fina de alta resolución.

Disolución problema: Salvo indicación contraria, disolver aproximadamente 20 mg (1 gota) del aceite graso en 3 ml de cloruro de metileno R.

Disolución de referencia: Disolver aproximadamente 20 mg (1 gota) de aceite de maíz R en 3 ml de cloruro de metileno R.

Aplicar a la placa, por separado, 1 microlitro de cada disolución.

Procedimiento:

- Desarrollar dos veces hasta una distancia de 0.5 cm utilizando éter R.
- Desarrollar otras dos veces hasta una distancia de 8 cm utilizando una mezcla de 20 ml de cloruro de metileno R, 40 ml de ácido acético glacial R y 50 ml de acetona R.
- Dejar que la placa se seque al aire y pulverizar con una disolución de 100 g/L de ácido fosfomolibdico R en etanol al 96 por ciento V/V R.
- Calentar la placa a 120 °C durante aproximadamente 3 min y examinar a la luz del día.



Investigación de valepotriatos:

Extracción: Pesar 0.2 g de material vegetal seco y molido, agregar 5 mL de diclorometano a 60°C en baño maría por 5 minutos. Agitar y filtrar, lavar el residuo con diclorometano, mezclar y evaporar a sequedad. Al residuo agregar 2 mL de acetato de etilo.

Cromatografía en capa fina:

De la solución agregar 10 µL a la cromatoplaça.

Fases móviles: Tolueno: acetato de etilo (75:25), n-hexano:metiletilcetona (80:20).

Detección: ácido clorhídrico y ácido acético, luz UV/VIS 254 nm, calentar a 100°C (zonas azules indican la presencia de valtratos y acetavaltratos, zonas cafés indican dihidrovaltratos).

Dinitrofenilhidrazina luz UV/VIS 254 nm (zonas verdes gris o azules, si hay calor excesivo, entonces zonas cafés-amarillas).

Referencias:

KUKLINSKI, C. (2000). Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Barcelona: Omega. 515p.

LOCK, O. (1994). Investigación Fitoquímica. 2ª. Ed. Fondo Editorial. Perú. 300 p.

REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (2002). 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801p.

SHARAPIN, N. (2000) Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santafé de Bogotá: Convenio Andrés Bello y CYTED. 247p.

SANTA CRUZ, L. Manual: Selección Fitoquímica, Guía Práctica para los laboratorios de Química de Productos Naturales y Fitoquímica. USAC. Guatemala. 92 p.

VILA, R & REING, M. (2003) Métodos de Control de Calidad. Madaus, UB Virtual, Imicromat. 39p.

WAGNER, H. *et al.* (1984). Plant Drug Analysis. Berlin, Springer-Verlang, 320 p.

WHO (1998) Quality control methods for medicinal plant materials. Geneva: WHO. 115p.



**DETERMINACIÓN DE HUMEDAD
UTILIZANDO UNA BALANZA DE HUMEDAD SARTORIUS MA45**

Elaborado por: Licda. Sully Cruz Fecha: febrero, 2005

Revisado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

Autorizado por: Lic. Armando Cáceres Fecha: febrero, 2005

I. Definición:

La humedad de una muestra no es sólo el contenido de agua. Por humedad del material se entiende toda materia volátil, que se elimina por calentamiento, conduciendo a la pérdida de peso de la muestra. Entre dichas sustancias tenemos: agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes, materias aromáticas, componentes volátiles, productos de descomposición.

El exceso de agua en drogas vegetales es el responsable de la hidrólisis de sus constituyentes y del crecimiento de microorganismos. Con pocas excepciones, el contenido de agua en estas drogas debe variar entre 8 y 12%.

La termogravimetría es un procedimiento para determinar una pérdida de masa, que se produce al calentar una sustancia. Para esto, la sustancia se pesa antes y después del calentamiento, y a continuación se calcula la diferencia entre ambos pesos registrados.

II. Objetivos:

Proporcionar instrucciones para determinar el porcentaje de humedad de una droga vegetal utilizando un analizador de humedad.

III. Responsable:

Es responsabilidad de la persona designada el cumplimiento de este PEO, este debe ser ejecutado de forma correcta para determinar cuantitativamente la humedad de una droga vegetal.

IV. Distribución:

Auxiliar de laboratorio
Estudiantes

V. Materiales y equipo necesarios:

Analizador (Balanza) de Humedad
Platillos desechables
Agitados magnético
Fibra de vidrio (cuando aplique)



Cucharilla

Varilla de vidrio

VI. Procedimiento:

1. Preparación de muestras:
 - Seleccionar parte representativa de la cantidad total como muestra.
 - Asegurar la homogeneidad de la muestra mezclando o agitando, muestreos en varias partes o bien muestreos en intervalos definidos.
 - Evitar toda influencia de calor al moler la muestra: el calor produce pérdida de humedad.
 - Moler la muestra con mortero, en líquidos con componentes sólidos utilizar varilla de vidrio, cucharilla o agitador magnético.
 - Utilizar sólo platillos de muestra desechables (diámetro interno = 92).
 - Distribuir la muestra en el platillo fina y homogéneamente (altura: 2-5 milímetros, cantidad de 5-15 gramos).
 - Poner muestras líquidas, pastosas o volátiles en filtro de fibra de vidrio.

2. Determinación de humedad
 - Encender la balanza de humedad.
 - Seleccionar programa de secado.
 - Seleccionar función programa: tecla (↓) y tecla (enter).
 - Seleccionar programa P1, P2 o P3 con la tecla (↓) y tecla (enter).
 - En caso dado, cancelar requerimiento de entrada para clave de acceso: tecla (CF).
 - Abandonar selección de programa: 2 x tecla (CF).
 - Abrir cámara de muestras.
 - Colocar platillo de muestra.
 - Tapar platillo de muestra: función TARA y tecla (enter).
 - Pesada inicial, cerrar cámara de muestras.
 - Iniciar: función INICIO y tecla (enter) o bien, cerrar cámara de muestras directamente (se realiza proceso de secado, esperar y leer el resultado).

3. Recomendaciones:
 - No debe penetrar líquido ni polvo en el aparato.
 - No utilizar detergentes agresivos (disolventes o similares), utilizar sólo un paño suave humedecido en agua jabonosa.
 - Puede quitarse fácilmente protector contra corrientes de aire y soporte de platillo.
 - Quitar cuidadosamente restos de muestra/polvo con pincel o jeringa aspiradora.
 - Secar el aparato con un paño suave.
 - Limpiar al radiador cerámico con pincel o líquido limpiavidrios de uso común.



LIPRONAT - Manual de Operaciones

Determinación de humedad 3/3

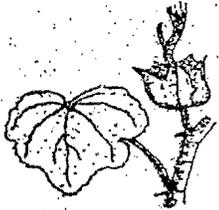
PEO No. 4 febrero 2005

Referencias:

- Manual de Instrucciones de Sartorius Moisture Analyzer. Modelo MA45. 2002. Alemania. 51 p.
REAL FARMACOPEA ESPAÑOLA (2002). 2ª Ed. Madrid: Ministerio de Sanidad y Consumo. 2801p.
VILA, R & REING, M. (2003) Métodos de Control de Calidad. Madaus, UB Virtual, Imicromat. 39p.

Anexo No. 11

Certificación de identificación de *Ocimum micranthum* proveniente de tres localidades
distintas



HERBARIO BIGU

Escuela de Biología
Facultad de C.C.Q.Q. y Farmacia

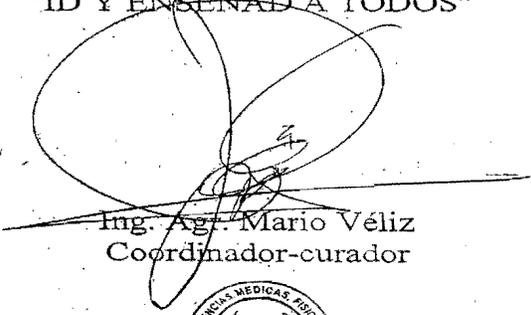
15 de Julio de 2010

A QUIEN INTERESE:

Por este medio se hace constar que las señoritas MERCY JOSEFINA PÉREZ RODRÍGUEZ carné 200419137 y MIRNA AMABEL CASTILLO GARCÍA con carné 200410728, estudiantes de la carrera de Química Biológica de esta casa de estudios, depositaron en este herbario tres especímenes de *Ocimum micranthum* Willd (LAMIACEAE), los cuales fueron registrados e incorporados a las colecciones con el número 52309, 53638, 53639; por lo que a solicitud de las interesadas, se les extiende la presente en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”


Ing. Agr. Mario Véliz
Coordinador-curador





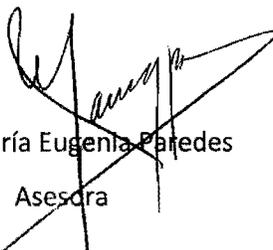
Mirna Amabel Castillo García

Autora



Mercy Josefina Pérez Rodríguez

Autora



M.Sc. María Eugenia Paredes

Asesora



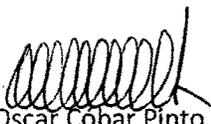
M.Sc. Ana Margarita Paz

Revisora



M.Sc. Vivian Matta

Directora Escuela de Química Biológica



Ph.D. Oscar Cobar Pinto

Decano Facultad de C.C. Q.Q. y Farmacia