

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

Determinación de las características de identificación de *Litsea guatemalensis*, una especie reconocida por sus propiedades medicinales y su uso culinario

INFORME DE TESIS

PRESENTADO POR
MARÍA ELENA CHICAS ESCOBAR

PARA OPTAR AL TÍTULO DE
QUÍMICA BIÓLOGA

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2011

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, PhD.

Decano

Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A

Secretario

Licda. Liliana Vides de Urizar

Vocal I

Dr. Sergio Alejandro Melgar Valladares

Vocal II

Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli

Vocal III

Br. José Roy Morales Coronado

Vocal IV

Br. Cecilia Liska de León

Vocal V

ACTO QUE DEDICO

A DIOS

Por ser mi fuerza y guía en los momentos difíciles

A MIS PADRES

Raúl Antonio (Q.E.P.D) por ser un ejemplo de amor y sacrificio en mi vida.

María Elena. Mami, gracias por tu ejemplo, amor incondicional, sacrificio y apoyo a pesar de las dificultades.

A MIS HERMANOS

Leonel, Nora, Miguel Ángel, Silvia, Claudia, Raul y Alba. Por estar conmigo siempre y compartir mis logros y mis fracasos.

A MI FAMILIA

Por su amor y apoyo. Especialmente a mi abuelita, Fabiana (Q.E.P.D), por ser un ángel guardián que me acompaña en todo momento.

A MIS AMIGOS

Ana María, Bonier, Diana, Deivy, Ever (Q.E.P.D), Gilda, Johany, Melvin, Ricardo, Robert, Xomara y a todos aquellos a quienes no menciono pero que ocupan un lugar especial en mi mente y corazón. Por la hermandad que nos une y por todos los momentos compartidos con cada uno de ustedes, que han dejado un recuerdo en mi corazón

A MIS COMPAÑEROS DE PROMOCIÓN Por los buenos momentos compartidos

AGRADECIMIENTOS

**A LA UNIVERSIDAD DE SAN
CARLOS DE GUATEMALA**

Por ser mi *Alma Mater*

**A LA FACULTAD DE CIENCIA
QUÍMICAS Y FARMACIA**

Por haber sido mi fuente de formación profesional, especialmente al departamento de Citohistología por el apoyo prestado en la realización de este trabajo de investigación y al departamento de Bioquímica del cual tuve el privilegio de formar parte.

**A LA FACULTAD DE MEDICINA
VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

Especialmente a la Lda. Rita Pérez, Lda. Guísela Vergara, Lda. Julia Sánchez, Br. Daniel Chajón y Sr. Christian Orellana, por su amistad y apoyo.

A MI ASESORA Y REVISORES.

Lda. María Eugenia Paredes, Lda. Margarita Paz y Lic. Armando Cáceres. Por ser los mentores que me guiaron a través de sus conocimientos para la elaboración y presentación de este trabajo.

**AL LABORATORIO DE
INVESTIGACIÓN DE
PRODUCTOS NATURALES
(LIPRONAT)**

Especialmente a la Lda. Sully Cruz, Lda. Cristy Menéndez y Br. Max Mérida, por su apoyo en la elaboración de este trabajo

A

María del Mar, Betzy, Familia Leal Salguero y Br. Luis Álvarez. Por su apoyo, conocimientos y permitirme realizar la colecta de la materia vegetal a estudio.

INDICE

No.	CONTENIDO	PÁGINA
I	RESUMEN	1
II	INTRODUCCIÓN	2
III	ANTECEDENTES	4
	A. Planta medicinal	4
	B. Definición de fitoterapia	4
	C. Datos históricos e importancia económica del laurel	5
	D. <i>Laurus nobilis</i> L.	9
	E. <i>Litsea guatemalensis</i> Mez	15
	F. Control de calidad	17
	G. Control de calidad y aspectos regulatorios de los productos de plantas medicinales en Guatemala	18
	H. Calidad de los medicamentos	19
	I. Control de calidad de la materia prima	21
	J. Parámetros de calidad para drogas vegetales y derivados	23
	K. Calidad, factores ambientales y distribución geográfica	40
	L. Herborización	44
IV	JUSTIFICACIÓN	46
V	OBJETIVOS	47
VI	HIPÓTESIS	48
VII	MATERIALES Y MÉTODOS	49
VIII	RESULTADOS	62
IX	DISCUSIÓN	87

X	CONCLUSIONES	92
XI	RECOMENDACIONES	93
XII	REFERENCIAS	94
XIII	ANEXOS	101

I. RESUMEN

La presente investigación fue realizada empleando materia vegetal de *Litsea guatemalensis* (hojas y tallos), de tres diferentes localidades, ubicadas en el departamento de Sacatepéquez (municipio San Bartolomé Milpas Altas, municipio Magdalena Milpas Altas y municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux).

Fueron analizadas nueve muestras con diferente fase fenológica (3 de cada localidad), que incluyen la fase de desarrollo foliar, inicio de floración e inicio de fructificación. A partir de las muestras se establecieron las características macroscópicas, organolépticas, microanatómicas e histoquímicas que identifican la droga cruda.

A nivel macroscópico se observó que todos los ejemplares de estudio eran similares, pues se describen como árboles silvestres, dioicos, con altura máxima aproximada de 5 m, con ramas finas y tallo leñoso de color café oscuro con diámetro que oscila entre 35 a 50 cm.

Las hojas son siempre verdes, lustrosas, glabras, bastante aromáticas con disposición alterna, elípticas-lanceoladas, con ápice agudo y base cuneiforme; de venación pinnada-reticulada, de margen entero con longitud máxima de 9.8 cm y ancho máximo de 3.9 cm, con peciolo elíptico lanceolado de longitud máxima de 1 cm.

En el tamizaje fitoquímico se realizaron reacciones para evaluar presencia de alcaloides, almidones, grasa y aceites, mucílagos, saponinas y taninos. Mientras que en el análisis de parámetros de calidad se realizaron mediciones cuantitativas de porcentaje de cenizas totales, porcentaje de humedad y porcentaje de rendimiento de aceites esenciales.

Con la información recabada se evidenció, mediante comparación de los datos obtenidos experimentalmente para *L. guatemalensis* y los datos reportados en la literatura para *Laurus nobilis* (laurel europeo), que ambas especies presentan diferencias en cuanto a la altitud y altura máxima de crecimiento; dimensiones de hojas, distribución de aceites esenciales y tipo de estomas. Mientras que las características macroscópicas, organolépticas, histológicas y microanatómicas en ambas especies son similares.

II. INTRODUCCIÓN

En muchos lugares se comercializan plantas a las cuales se le atribuyen propiedades medicinales, aunque su identidad puede ser dudosa, ya que se confía en las características organolépticas para asegurar la naturaleza de una planta determinada.

La comercialización y uso de plantas falsas o adulteradas, pueden ocasionar una situación perjudicial en la enfermedad de un paciente, retardando o empeorando su curación, además de la pérdida de confianza en la actividad terapéutica de las plantas.

Una de las plantas ampliamente utilizadas como fitofármaco, es el laurel, dadas sus propiedades atribuidas: aromática, antiséptica, astringente, balsámica, carminativa, emenagoga, emoliente, estimulante, espasmolítica, febrífuga y pectoral (Cáceres, 1996; Cáceres 2006).

El laurel es utilizado en afecciones respiratorias, gastroenteritis, carencia de leche materna e inflamación; así también en lavados y baños para reducir el cansancio, reducir ataques epilépticos, tratar úlceras e inflamación de piernas, entre otras aplicaciones (Cáceres, 1996; Cáceres 2006).

En Guatemala *Laurus nobilis* y *Litsea guatemalensis* son especies de laurel, empleadas indistintamente. *L. nobilis* también llamado laurel común, europeo o de cocina, es una especie reconocida y usada desde la antigüedad por griegos y romanos, su origen se sitúa en Asia Menor, extendiéndose por toda la región mediterránea, en las zonas subtropicales de Rusia, Centro y Sudamérica (Menéndez, 2006).

Litsea guatemalensis es una especie nativa del país, que crece en bosques abiertos de pino y matorrales de 1500 a 3150 metros sobre el nivel del mar (msnm); descrito en Chimaltenango, Guatemala, Jalapa, Sacatepéquez y Sololá (Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

El presente estudio tuvo como objetivo definir los elementos que establecen la calidad del material vegetal de *L. guatemalensis*, en tres diferentes fases fenológicas de tres

localidades: municipios San Bartolomé Milpas Altas y Magdalena Milpas Altas, Sacatepéquez; y el municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux.

Para establecer los estándares mínimos que según la Organización Mundial de la Salud (OMS), las Buenas Prácticas de Manufactura (BPMs) y el Código de Salud de Guatemala debe cumplir la materia vegetal de dicha planta, para ser utilizada dentro del campo de la fitoterapia como una opción terapéutica de los sistemas oficiales de salud o como condimento.

Se realizó la autenticación micromorfológica y citohistológica para establecer la presencia de metabolitos tales como: almidón, alcaloides, mucílagos, saponinas, taninos, grasas y aceites.

En cuanto a los parámetros de calidad se realizó ensayos cuantitativos para determinar humedad, cenizas totales y porcentaje de rendimiento de aceites esenciales, de los cuales se identificaron los tres principales aceites esenciales reportados en la literatura para esta especie, que estaban disponibles en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT), limoneno, citral y 1,8 cineol; mediante la técnica de cromatografía en capa fina (Jays, Navas, Pérez, De León, Farfán y Mérida, 2006).

También se hizo una descripción detallada de las características macromorfológicas y organolépticas de la materia vegetal colectada.

Con la información obtenida, se procedió a la determinación de las características que distinguen a *L. guatemalensis* de *L. nobilis*, con quien comparte usos similares.

III. ANTECEDENTES

A. Planta medicinal

Se denomina planta medicinal a cualquier planta que contiene en uno o más de sus órganos sustancias con actividad farmacológica o principios activos, que pueden ser utilizados con fines terapéuticos o como prototipo para obtener nuevos fármacos por síntesis o hemisíntesis farmacéutica (Pahlow, 1985; Arteché, Cañigüeral y Villa, 1998; Kuklinski, 2000; Ocampo, Martínez y Cáceres, 2007).

El principio activo es definido como la sustancia química responsable de la actividad farmacológica y del uso terapéutico de una droga, al ser administrado en dosis suficiente produce un efecto curativo en humanos o animales (Pahlow, 1985; Arteché et al., 1998; Kuklinski, 2000).

Sin embargo, al no ser utilizados adecuadamente muchos de estos compuestos pueden provocar reacciones tóxicas en el organismo, las cuales dependen de la parte empleada de la planta y la dosis consumida. Los efectos tóxicos pueden manifestarse de forma inmediata o a largo plazo (Ocampo et al., 2007).

Varios principios activos pueden encontrarse en la misma especie. Estas sustancias no se distribuyen de manera uniforme en toda la planta, ya que están en diversos órganos tales como raíz, semilla, hojas, etc. Por esta razón es importante conocer cuál órgano contiene el mayor contenido de principios activos para mejorar su cosecha, productividad y manejo postcosecha (Ocampo et al., 2007).

En la actualidad la mayoría de fármacos existentes provienen de plantas y son el producto de la investigación en plantas medicinales (Pahlow, 1985; Arteché et al., 1998; Kuklinski, 2000).

B. Definición de fitoterapia

La fitoterapia es la ciencia que estudia la utilización de los productos de origen vegetal con finalidad terapéutica, ya sea para prevenir, atenuar o curar un estado patológico.

También puede ser definida como la intervención para mejorar la salud mediante el empleo de plantas o derivados, con propiedades medicinales (Arteche et al., 1998; Cáceres, 2006; Moreno, 2007).

Es considerada como un conjunto de tratamientos terapéuticos, basados directamente en el uso de las drogas de origen vegetal. Las materias vegetales pueden emplearse en su forma más sencilla, como infusiones simples o compuestas, o en forma de preparaciones galénicas como tinturas, extractos y ungüentos (Volak y Stodola, 1984).

El término también suele aplicarse a la utilización terapéutica de productos con una actividad leve o moderada, con márgenes terapéuticos amplios, que dan lugar a tratamientos menos agresivos y que hacen de la fitoterapia una herramienta especialmente útil en el tratamiento de afecciones leves, moderadas o crónicas (Paredes, 2005).

Dependiendo de su presentación, grado de evaluación, hábitos de empleo y objetivos, los distintos productos pueden encontrarse jerarquizados desde fitoalimentos hasta fitofármacos, entendiéndose este último como un auténtico medicamento, que es empleado principalmente en forma de automedicación (Arteche et al., 1998).

La Normativa 24-2001 emitida por la Jefatura del Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines de Guatemala, define a los fitofármacos como productos derivados de plantas y/o su mezcla en forma de extractos, liofilizados, destilados, tinturas, cocimientos o cualquier preparación galénica que tiene utilidad terapéutica y una forma farmacéutica definida (Cáceres, 2006).

La fitoterapia es una parte de la terapéutica que actualmente esta manifestando un renovado interés, tanto en el campo de las enfermedades internas, dermatológicas y cosméticas (Volak y Stodola, 1984).

C. Datos históricos e importancia económica del Laurel

Desde la prehistoria y por mucho tiempo en Europa se le atribuyeron al laurel propiedades mágicas, como la de brindar protección contra los rayos y la de “espantar”

plagas. Se decía que aquellos que durmieran en una cama de ramas de laurel e inhalaran sus vapores, tendrían sueños que se volverían realidad (Forés, 1998; Simi, Kundakovi & Kova, 2003; Barla, Topcu, Öksüz, Tümen & Kingston, 2007).

El laurel es una planta que ha tenido importancia simbólica para algunas culturas, como la romana y la griega. En la cultura griega, por ejemplo, el laurel fue relacionado con Apolo, dios de la música, la profecía y el sol; y ya que Apolo era el dios de las bellas artes, el laurel pasó a ser símbolo de honor para poetas, músicos y artistas (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

En la cultura romana, fue utilizado como símbolo de honor para triunfos de la milicia y se convirtió en muchos países en un emblema de graduación universitaria y honor (*Honor lauris*) (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

A principios de la edad media el laurel tomó gran importancia, especialmente por sus usos curativos, por lo que se exportaba del Mediterráneo hacia el norte de Europa. Aparece comúnmente en libros sobre medicina herbolaria de esa época, siendo su principal uso para aliviar malestares del estómago, riñones y lesiones en la piel, incluyendo el acné (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

En la medicina occidental al laurel se le han atribuido propiedades antisépticas, antirreumáticas y parasiticidas. Asimismo, es usado como tónico estomacal que estimula el apetito, como digestivo, colagogo y carminativo; es también astringente, diurético y sudorífico (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

El laurel contiene aceites esenciales como eugenol, cineol y geraniol, que le confieren su sabor amargo y sus propiedades curativas. De sus frutos se extrae un aceite, antiguamente utilizado en medicina para el tratamiento de inflamaciones osteoarticulares y empleado en la industria para preparar jabones y velas (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

Las tradiciones gastronómicas que incluyen al laurel son de las más antiguas del mundo. Por ser una planta aromática, sus hojas se consideraban como una especie indispensable en los recetarios romanos del siglo I, ya que proporcionan una fragancia y bouquet

característico a los diferentes platillos que lo contienen (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

Durante el siglo XVII el laurel y otras especies se usaban principalmente para compensar la baja calidad que tenían los alimentos, pero más tarde los condimentos ocuparon otro papel en la cocina, el cual consistía en resaltar los sabores intrínsecos de la comida. Fue así como el laurel se posicionó como especie base de la gastronomía mediterránea, especialmente en la comida italiana y posteriormente de la comida francesa y española, por mencionar algunas (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

En México, la conquista introdujo al laurel de la mano de un sin número de alimentos, ocasionando que a las especies nativas del continente se les denominara con nombres comunes como semblanza a especies de plantas útiles del Viejo Mundo (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

Existen varias especies que en México son llamadas laurel, por ser similares al laurel europeo conocido científicamente como *L. nobilis*, aunque en realidad en la clasificación científica estas especies no tienen relación, e incluyen además especies que ni siquiera son comestibles, o que son tóxicas (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

Existen por lo menos 20 especies a las que se les da el nombre de laurel y otras tantas con este nombre modificado, como el “laurel blanco” o “laurel rojo”. Una planta llamada laurel, empleada como condimento en México es *L. glaucescens*, muy común en el centro del país, y con un sabor tenue parecido al del laurel europeo (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

En Guatemala las hojas frescas o secas de *L. guatemalensis*, se utilizan indistintamente como *L. nobilis* dentro de la gastronomía, especialmente en la preparación de sopas, salsas, guisos o cocidos, pues otorgan a estos alimentos un sabor aromático parecido al otorgado por la especie europea, que hacen de la comida más que un requerimiento o una mera necesidad, un placer y un arte (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

El laurel es una especie ampliamente utilizada debido a su versatilidad; es originario del Cercano Oriente, probablemente de Siria, aunque actualmente se cultiva en varios países, especialmente en los mediterráneos, tales como Italia (principal exportador), España, Portugal, Grecia y Turquía; al este de Asia y Centroamérica, principalmente en Guatemala (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

Posee una gran variedad de usos como elemento esencial del arte culinario mediterráneo, como medicamento de uso popular, ya sea en forma de infusión o como tónico estimulante. Y cumple diversas funciones a nivel ambiental, económico e industrial en la elaboración de jabones (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

Recientemente en Argentina se han empleado aceites esenciales de la especie europea (*L. nobilis*) en la investigación y control de *Myzus persicae* Sulz, la cual es una plaga muy importante que ocasiona daños al cinturón hortiflorícola de Argentina, teniendo serias repercusiones en dicho país, por ser vector de numerosos virus que afectan a diversos cultivos (Ricci, Padín, Kahan y Henning, s.f.).

Los aceites esenciales han sido evaluados debido a que presentan efectos repelentes sobre cultivos de pimiento y repollo. Constituyese como una posible herramienta para el manejo de plagas, por su eficiencia, bajo impacto ambiental y escaso costo de producción (Ricci et al., s.f.).

En algunos países como México, en zonas que poseen una gran cantidad de laurel, las colmenas tienen una producción de miel incrementada hasta 75 kilogramos por colmena por cosecha. Por lo que se recomienda la siembra de dicha especie cerca de las colmenas. La miel de laurel es muy aromática con un sabor suave (Proyecto de manejo de abejas y del bosque (PROMABOS), s.f.).

También es una fuente primaria de polen. Es una fuente de néctar para la abeja de castilla (*Apis mellifera*) y para las abejas sin aguijón (Apidae-Meliponini), como jicota (*Melipona beecheii*), chumelo (*Tetragonisca angustula*), magua alazán (*Scaptotrigona*

pectoralis) y otras (*Scaptotrigona luteipennis*, *Tetragona dorsalis*, *Trigona amaltea*, *Plebeia* sp y *Oxytrigona mellicolor*) (PROMABOS, s.f.).

Es importante mencionar que en algunos lugares, diferentes especies conocidas como laurel presentan una gran importancia económica, debido a la utilización de su madera para la elaboración de muebles, debido a su alta calidad y resistencia (Forés, 1998; Simi et al., 2003; Barla et al., 2007).

D. *Laurus nobilis* L.

Laurus nobilis, también llamado laurel, laurel europeo o laurel de Apolo, es un árbol de pequeño tamaño, de hasta 15 m, dioico y de hojas perennes bastante aromáticas. Tiene tronco derecho con corteza lisa de color gris verdoso oscuro y ramas verdes, glabras y lustrosas que se tornan de color gris oscuro al envejecer (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Las hojas, simples y alternas, miden 6 - 15 x 2 - 5 cm, son de consistencia coriácea, de color verde intenso, lustrosas, mates en el envés, con un peciolo de 1 cm de color rojizo, tienen forma lanceolada, de borde ondulado y ápice agudo; tiene nerviación pinnada, siendo el nervio principal visible en el haz y prominente en el envés; en la porción axial aparecen los únicos tricomas de la hoja (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Las flores son unisexuales, masculinas en un árbol y femeninas en otro. Son de color amarillo pálido y aparecen en umbelas en la porción axial de las hojas; tienen un periantio formado por 4 piezas oblongas y caducas de 3 - 4.5 x 1.5 - 2 mm (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Las flores masculinas tienen el androceo formado por 8 - 12 estambres amarillentos de unos 3 mm que tienen anteras redondeadas con un par de nectarios opuestos en su base; estas anteras se abren por valvas de hasta 1.2 mm (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Las flores femeninas tienen entre 3 y 4 estambres y un pistilo verde que finaliza en un estilo corto y un estigma trígono. El fruto es una baya de forma ovoide-globosa de 10 - 15

mm, aguda y con restos del receptáculo, de color negro en la madurez. Florece de febrero a abril (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Es originario del Cercano Oriente, probablemente de Siria, aunque actualmente se cultiva en varios países, especialmente en los mediterráneos: Italia, principal exportador, España, Portugal, Grecia y Turquía; al este de Asia y Centroamérica (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Se propaga principalmente por esquejes, o “coditos” ya sea del tronco o de la raíz, también se lleva a cabo la reproducción por semilla, aunque en menor proporción. Las hojas son cosechadas a mano, extendidas y luego secadas a la sombra, puesto que al sol pierden mucho de su olor, sabor y color, tomando una apariencia café pálida (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Crece sobre cualquier tipo de suelo hasta los 800 m de altitud, pero en los suelos calizos, débilmente ácidos (pH 4.5 – 7.5), pobres en nitrógeno y bien iluminados es donde mejor se desarrolla, por lo que es indicador de sequedad moderada. No soporta heladas tardías ni temperaturas extremas (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Es por tanto una planta característica de las comunidades de la clase Querco - Fagetea, que están dominadas por meso y microfanerófitos, caducifolios o marcescentes, que forman bosques, prebosques y formaciones arbustivas de xerófitas a higrófitas (Forés, 1998; Menéndez, 2006).

Medicinalmente se emplea sus hojas y especialmente los frutos, que son ricos en cineol, eugenol, lactonas sesquiterpénicas (costunólida, laurenobiólida), taninos, pineno, linalol, geraniol, sabineno, limoneno, confeno, p-cimeno, terpineol, lípidos y además de glicéridos como ácido oleico, linoléico, palmítico y laúrico (Forés, 1998; Arteché et al., 1998; Menéndez, 2006).

El aceite esencial produce un efecto antiséptico, expectorante, carminativo, diaforético y espasmolítico. Las lactonas sesquiterpénicas presentan además una acción estimulante del apetito, digestiva y colagoga. El aceite esencial es antiparasitario y antirreumático cuando

se aplica de modo externo, en uso tópico es pediculicida y rubefaciente. Popularmente también se usó como emenagogo y antihemorroidal (Forés, 1998; Arteché et al., 1998; Menéndez, 2006).

Su utilización está indicada en caso de anorexia, dispepsias hiposecretoras, espasmos gastrointestinales, meteorismo, bronquitis crónica, enfisema y asma. Tópicamente se emplea en caso de estomatitis, faringitis y sinusitis; el aceite obtenido de los frutos se utiliza en inflamaciones osteoarticulares y pediculosis (Arteché et al., 1998).

Salvo indicación expresa se recomienda abstenerse de prescribir aceites esenciales por vía interna durante el embarazo, la lactancia, a niños menores de 6 meses o a pacientes con gastritis, úlceras gastroduodenales, síndrome del intestino irritable, colitis ulcerosa, enfermedad de Crohn, hepatopatías, epilepsia, Parkinson u otras enfermedades neurológicas (Arteché et al., 1998).

Tampoco debe ser administrado o aplicado tópicamente a niños menores de 6 años ni a personas con alergias respiratorias o con hipersensibilidad conocida a éste u otros aceites esenciales (Arteché et al., 1998).

Como efectos secundarios produce dermatitis de contacto y fenómenos de fotosensibilización. El aceite esencial y las trazas de alcaloides, pueden ejercer una acción tóxica sobre el sistema nervioso (Arteché et al., 1998).

Aunque el mayor peligro deriva de su confusión con el laurel-cerezo, que contiene abundantes heterósidos cianogénicos. Debido a la presencia de lactonas y taninos, las infusiones concentradas pueden producir una irritación de la mucosa gástrica (Arteché et al., 1998).

En cuanto a sus formas galénicas y posología, puede ser utilizado internamente como condimento alimenticio, o bien en infusiones preparadas a partir de 3 ó 4 hojas por taza infundidas por 10 minutos, 2 ó 3 veces al día, antes o después de las comidas. Si se emplea una tintura se utilizan 30 gotas, tres veces al día y en el caso de aceites esenciales se aplican de 2 a 4 gotas por lo menos dos veces al día (Arteché et al., 1998).

Si el uso es tópico se emplean decocciones de 5 hojas por taza, hervidas durante tres minutos. También se utiliza en forma de colutorios, gargarismo o compresas sobre la frente para aliviar la sinusitis (Arteche et al., 1998).

Comercialmente se encuentra como hojas secas gruesas y coriáceas, de color café o verde-café con un olor característico y sabor picante.

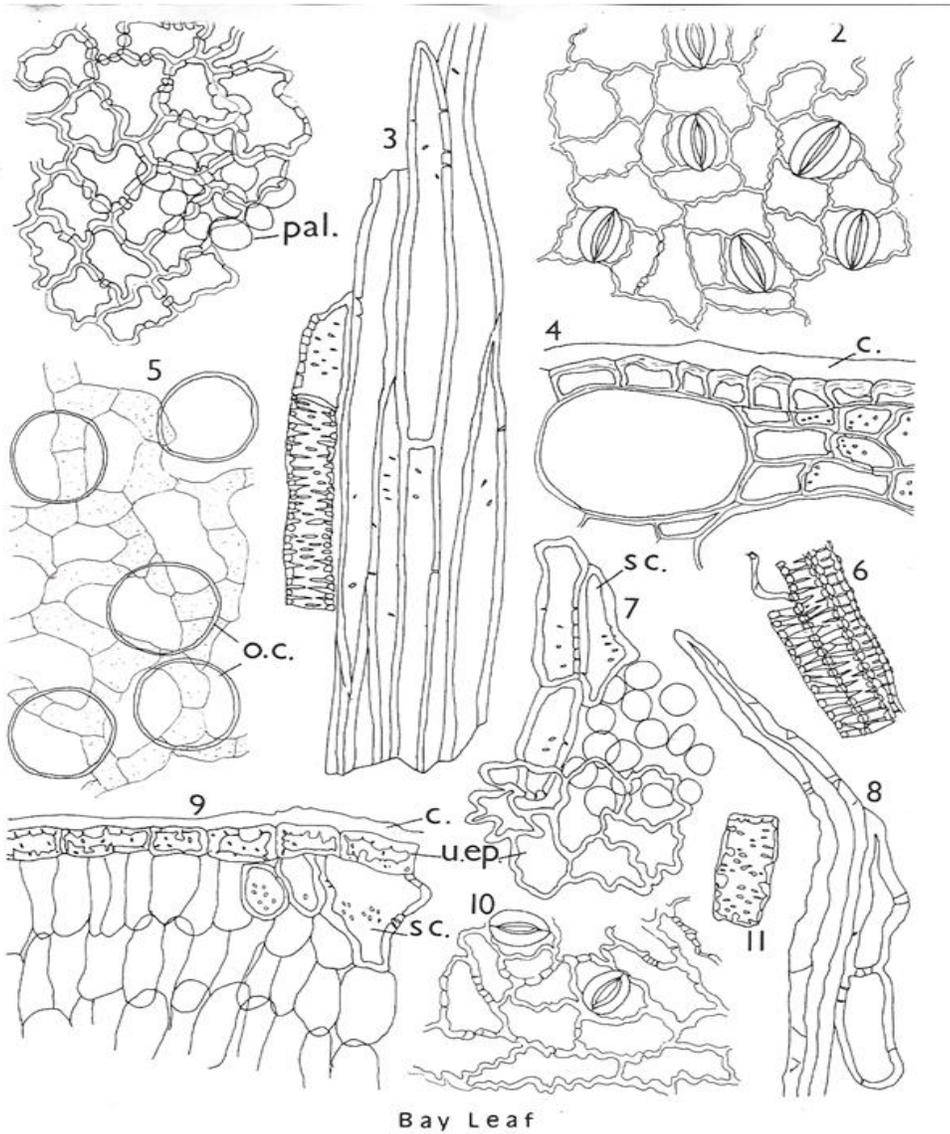
1. Características micromorfológicas de *L. nobilis*

Los caracteres diagnósticos que presenta son los siguientes:

- a) La epidermis superior está compuesta de células con forma irregular; paredes grandes gruesas y celulósicas, con espacios conspicuos y aspecto de reborde irregular; los estomas están ausentes; las células en empalizada son bastante grandes y poco empacadas.
- b) La epidermis inferior se compone de células finas sinuosas de forma irregular, paredes gruesas con pocos espacios, notablemente menos gruesas que las de la epidermis superior; algunas muestran una leve reacción de lignina; están presentes numerosos estomas paracíticos, las células guardianas dan una reacción positiva con ácido clorhídrico y florogucinol. En las venas las células epidérmicas son más alargadas.
- c) Presentan abundantes fibras lignificadas en grupos que se asocian frecuentemente con el tejido vascular; las paredes son moderadamente gruesas, de forma irregular y presentan espacios en forma de hendiduras.
- d) Contiene numerosas esclereidas; algunos de estas se asocian a las fibras y el tejido vascular, pero la mayoría se encuentran en pequeños grupos en el mesófilo en empalizada justo debajo de la epidermis superior, y son particularmente abundantes en los márgenes de la lámina.

- e) Las células individuales varían en forma, siendo generalmente irregulares y alargadas; las paredes son moderadamente gruesas con numerosas aberturas en forma de espacios redondos.
- f) Los aceites son muy abundantes en células grandes, se encuentran en el mesófilo esponjoso y ocasionalmente en la empalizada: Los depósitos de aceite se observan con forma redonda a ovoides y tienen paredes delgadas que dan una leve reacción con ácido clorhídrico y florogucinol, tornándose de un color amarillento.
- g) La lámina en vista transversal muestra que las hojas pueden ser dorsoventrales con la empalizada compuesta de varias capas, con grupos dispersos de esclereidas que se producen en la capa próxima a la epidermis superior; presentan una moderadamente gruesa cutícula que abarca el espesor de las paredes de células epidérmicas .
- h) En el margen de la hoja están presentes células con aceites que se asocian con esclereidas en el mesófilo.
- i) Los grupos de depósitos lignificados muestran engrosamiento anular o en espiral, las paredes son reticuladas y gruesas (Jackson & Snowdon, 1990).

En el esquema se observan diferentes estructuras presentes en los tejidos de *L. nobilis*, entre las que destacan:



x330

- En la superficie superior de la epidermis se observa la base de la empalizada.
- En la superficie inferior de la epidermis se observa estomas paracíticos.
- Parte del grupo de fibras y esclereidas con una asociación reticular engrosada.

- Parte de la lámina cercana al margen, en la vista seccional, muestra la cutícula (c), las células de la epidermis inferior con células gruesas, células de aceite y esclereidas en el mesófilo.
- Las células de aceite (o.c.) se asocian a las células del mesófilo esponjoso.
- Un grupo de vasijas en las venas
- La epidermis superior (U.ep.) en la superficie muestra un grupo de esclereidas (sc.) en la línea de la empalizada.
- Esclereidas y parte de una fibra.
- Parte de la lámina en la vista seccional de la cutícula (c.) epidermis superior (u.ep.) y líneas de empalizada con un grupo de esclereidas (sc.)
- La superficie inferior de la epidermis muestra células más alargadas sobre la vena.
- Esclereidas aisladas (Jackson & Snowdon, 1990).

E. *Litsea guatemalensis* Mez.

L. guatemalensis es un árbol pequeño de 6 m de alto con ramas finas de color café. Sus hojas son coriáceas y agudas en la base, lustrosas y glabras de 8 cm de longitud y 2.5 cm de ancho; poseen un pecíolo de 1.5 cm de largo, elíptico-lanceolado. Las flores son axilares brácteas de involucre deciduo, con filamentos glabros y un pedúnculo simple, solitarias de 15 mm de largo; presentes en número de 5 - 11 (Standley & Steyermark, 1946; Martínez, 1995; Cáceres, 1996; Cáceres, 2006; Jayes et al., 2006).

Esta especie es endémica de Guatemala, crece en bosques mixtos abiertos de pino y matorrales entre 1500 a 3150 msnm; ha sido descrita en Chimaltenango, Guatemala, Jalapa, Sacatepéquez y Sololá (Standley & Steyermark, 1946; Martínez, 1995; Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

Se recolecta en campos de crecimiento silvestre en regiones frías y montañosas del altiplano del país. Su crecimiento es frecuente pero raramente se encuentra en forma abundante en una localidad determinada. Se propaga por semilla; florea de febrero a junio.

Las hojas y flores se colectan hacia finales de la floración y se secan a la sombra (Standley & Steyermark, 1946; Martínez, 1995; Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

Dentro de los usos medicinales que le son atribuidos al ser administrado por vía oral se encuentra su utilización en afecciones respiratorias (amigdalitis, tos, tos ferina), gastroenteritis (diarrea, cólico, úlcera), carencia de leche materna e inflamación (Martínez, 1995; Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

Por vía tópica la corteza se utiliza en lavados y baños para reducción de cansancio, ataques epilépticos, úlceras e inflamación de piernas. Por otra parte, el cocimiento de la misma se emplea para tratar mordeduras de serpientes y perros. En sahumeros se utiliza contra la parálisis (Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

A esta especie también se le atribuye propiedad aromática, antiséptica, astringente, balsámica, carminativa, emenagoga, emoliente, estimulante, espasmolítica, febrífuga y pectoral (Cáceres, 1996; Méndez, 2002; Cáceres, 2006).

En los estudios de farmacología experimental y clínica no muestra actividad contra enterobacterias, pero tiene moderada actividad contra *Candida albicans*, *Epidermophyllum floccosum* y *Microsporum canis*. Además su extracto etanólico presenta actividad insecticida contra hormigas (Méndez, 2002; Cáceres, 2006; Quiñonez, 2008).

En un estudio realizado por Quiñónez y col. *L. guatemalensis* presentó efecto inhibitorio contra cepas de *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv y *Mycobacterium smegmatis* ATCC 607 (Méndez, 2002; Cáceres, 2006; Quiñonez, 2008).

L. guatemalensis se caracteriza por poseer una amplia variedad de aceites esenciales, destacando un alto contenido de 1,8-cineol, α -terpineol y linalol. El 1,8-cineol puede ser utilizado para facilitar la absorción transcutánea de otras sustancias, además presenta indicación terapéutica en el tratamiento de estomatitis, faringitis y sinusitis, así como antirreumático, pediculicida y parasiticida (Méndez, 2002; Vallverdú, Villa, Cruz, Cáceres & Cañigüeral, 2005; Cáceres, 2006).

El tamizaje fitoquímico de *L. guatemalensis* indica que las hojas presentan alcaloides cuaternarios y no cuaternarios, saponinas, esteroides insaturados, cardenólidos, bufadienólicos, flavonoides, leucoantocianinas, quercitina, estilbina, taraxon y aceite esencial como el limoneno y citral (Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

En esta especie también se ha reportado presencia de 8 % de agua, 13.7 g de proteínas, 7.0 % de grasas, un total de carbohidratos de 66.4 %, fibra en 23.7 %, 4.9 % de cenizas, 803.0 g de calcio, fósforo 114 g, hierro 15.0 g, tiamina 0.10 g, riboflavina 0.65 g y niacina 2.5 g (Duke & Archley, 1986).

La materia médica la constituyen las hojas secas, las cuales deben tener las características botánicas, fisicoquímicas y organolépticas que caracterizan a la especie (Cáceres, 1996; Rodríguez, 2000; Cáceres, 2006).

En la literatura no se encuentra referencia sobre la toxicidad de esta especie, aunque se contraindica el uso del aceite esencial durante el embarazo, en pacientes con gastritis, colitis y úlcera péptica. Además se ha indicado que el uso del aceite puede producir dermatitis de contacto y fenómenos de fotosensibilización. En altas dosis puede ser tóxico al sistema nervioso central (SNC) (Cáceres, 1996; Rodríguez, 2000; Cáceres, 2006).

F. Control de calidad

Una definición generalmente aceptada dice que calidad es el conjunto de requisitos o características de un producto o servicio que satisfactoriamente superan las expectativas del consumidor (Del control a la gestión de la calidad, 2004; Paredes, 2005).

La Norma ISO 9001:2000 la define como el grado en que un conjunto de características inherentes satisfacen ciertos requisitos. También es definida como la naturaleza esencial de un producto y la totalidad de sus atributos y propiedades, las cuales determinan su idoneidad para los propósitos a los cuales se destina (Constitución de la República de Guatemala, 1961; Del control a la gestión de la calidad, 2004; Organización Mundial de la Salud (OMS), 2005).

El control de calidad es definido como el conjunto de técnicas y actividades operativas utilizadas para medir los requerimientos de calidad. Provee record sobre la consistencia del desempeño; incluye obtención, toma, ordenamiento, análisis de datos y toma de acciones correctivas relacionadas. La Norma ISO 9001:2000 define control de calidad como parte de la gestión de calidad orientada al cumplimiento de los requisitos de calidad (Del control a la gestión de la calidad, 2004).

Este concepto constituye una estrategia para asegurar el mejoramiento continuo de la calidad, involucrando la orientación de la organización a la calidad de productos, servicios, desarrollo de personal y contribución al bienestar general, pues al definirse como una estrategia asegura que se están realizando todos los pasos necesarios para lograr los objetivos (Paredes, 2005).

G. Control de calidad y aspectos regulatorios de los productos de plantas medicinales en Guatemala.

En la actualidad existe gran interés de los países industrializados por la flora nacional, sin embargo, este interés se ve limitado, ya que solo se puede exportar aquellas plantas de las que exista suficiente conocimiento agrotecnológico y que puedan ser manejadas y cultivadas, de forma que se proteja la riqueza natural, y que a su vez cumpla con las normas de garantía de calidad que dictan organizaciones internacionales como la OMS sobre las Buenas Prácticas Agrícolas (BPA'S) (Del control a la gestión de la calidad, 2004; OMS, 2005; Paredes, 2005).

Ya que estas normas se constituyen como directrices que tienen como objetivos generales proteger al consumidor, al otorgar garantía sobre la inocuidad de alimentos, frutas y hortalizas, fomentar la confianza de los mercados extranjeros en los productos, lograr el reconocimiento de protocolos y/o programas de inocuidad en los mercados objetivos, lograr la diferenciación de los productos cuyo origen sean fincas que aplican condiciones higiénicas en los procesos de producción para otorgar garantía sobre la inocuidad de los productos ofertados (Del control a la gestión de la calidad, 2004; OMS, 2005; Paredes, 2005).

En los últimos años en Guatemala, se ha buscado el establecimiento del Sistema Nacional de Calidad, con el fin de cumplir con los requerimientos internacionales, a través de la implementación de la Ley del Sistema Nacional de Calidad (Ley del sistema nacional de calidad, 2005).

El Sistema Nacional de Calidad, esta integrado por la Comisión Guatemalteca de Normas (COGUANOR), la Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA), el Centro Nacional de Metrología (CENAME), la Comisión Nacional de Reglamentación Técnica (CRETEC) y el Centro de Información (CEINFORMA) (Ley del sistema nacional de calidad, 2005).

Estas organizaciones tienen a su cargo diferentes funciones y objetivos entre los cuales se encuentran promover la adopción de prácticas de gestión de la calidad en las empresas que conforman el sector productivo del país, con el fin de fomentar la calidad de los bienes y servicios que se ofrecen en el mercado nacional e internacional (Ley del sistema nacional de calidad, 2005).

Además buscan minimizar los obstáculos técnicos del comercio y establecer las bases para la adopción de los reglamentos técnicos, que tienen por objeto la prevención y limitación de riesgos capaces de producir daños o perjuicios a personas, animales, vegetales o al medio ambiente (Ley del sistema nacional de calidad, 2005).

En el Artículo 96 de la Constitución de la República sobre el Control de calidad de productos, se expone la necesidad de regulación de productos farmacéuticos en cuanto al régimen de autorización de comercialización, tomando en cuenta la unidad del mercado, la libre circulación de productos y la influencia que estos poseen en la salud de los habitantes (Rodríguez, 2000).

H. Calidad de los medicamentos

De acuerdo con la OMS, los fitofármacos son los productos obtenidos por procesos tecnológicamente adecuados, utilizando exclusivamente materias primas vegetales, con

finalidad profiláctica, curativa, paliativa o para fines de diagnóstico (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003).

Se caracterizan por el conocimiento eficaz de los riesgos que conlleva su uso, así como por la reproducibilidad y la constancia de su calidad. Este organismo recomienda que se establezcan criterios científicos y métodos que aseguren la calidad y eficacia de las preparaciones obtenidas a partir de plantas medicinales, a través de la aplicación de patrones internacionales y especificaciones de identidad, pureza, métodos para uso seguro y eficaz de los productos fitoterapéuticos (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003).

A nivel general, la calidad idónea para el uso de un medicamento está determinada por el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), a través del proceso de fabricación y las características que el producto posee, tales como identidad, pureza, potencia, uniformidad, seguridad, estabilidad y biodisponibilidad, que hacen posible la eficacia terapéutica (Romero, 1996; Paredes, 2005).

La calidad de un medicamento se potencializa en cada una de las etapas del ciclo de fabricación, efectuado bajo un control continuo del proceso, que se inicia desde la selección de la materia prima adecuada para cada uno de los constituyentes del medicamento, hasta el envase adecuado y etiquetado del producto final (Romero, 1996; Paredes, 2005).

En los últimos años, la utilización de plantas medicinales, sumada a los avances en tecnología, ha influido en los cambios que la industria farmacéutica, los centros de investigación y la agroindustria experimenta en los procesos de estudio, desarrollo y producción, que han permitido generar diversos productos de calidad uniforme, eficaces y seguros (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003; Paredes, 2005).

Estos aspectos hacen que el enfoque para definir la calidad en las plantas medicinales y aromáticas varíe de acuerdo al uso y destino. Sin embargo, se ha establecido que las características de calidad de un medicamento terminado deben incluir:

1. Identidad: Presencia de los ingredientes de acuerdo con la etiqueta. Comprende características del producto tales como forma, tamaño, color, sabor, marcas externas, etc.
2. Potencia: Actividad farmacoterapéutica de los ingredientes activos, que deben encontrarse en cantidades suficientes para ejercer su acción.
3. Concentración: Expresión del resultado porcentual del principio activo, después de una valoración química o biológica.
4. Uniformidad: Se refiere a la propiedad que tiene cada unidad posológica de un mismo lote de suministrar la misma cantidad de principio activo.
5. Biodisponibilidad: Característica por medio de la cual el medicamento se absorbe y produce de esta manera la acción terapéutica.
6. Estabilidad: Es la propiedad que tiene el producto de conservar las características anteriores durante su vida útil (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003; Paredes, 2005).

Otra forma de asegurar la calidad de medicamentos lo constituyen las especificaciones de calidad, que hacen referencia a un documento que lista las características de calidad de un producto, indicando los valores numéricos asignados a cada una, se expresan en unidades de medida internacionales e incluyen los límites de variación o tolerancia aceptables (Paredes, 2005).

Estas características tienen relación unas con el aspecto físico y otras con el aspecto funcional del producto. Las especificaciones establecidas en forma de requisitos y normas son la única forma de asegurar la reproducibilidad lote tras lote (Paredes, 2005).

I. Control de calidad de la materia prima

En la estandarización de los medicamentos herbarios se debe comenzar desde la misma planta, controlando cuidadosamente todos los pasos de su reproducción antes de realizar el control final de los parámetros de seguridad en la línea de producción, porque el material

vegetal, es en definitiva el que va a definir la potencia y calidad del producto final (Paredes, 2005).

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, y por ende no permitirá asegurar la calidad uniforme del producto final (Paredes, 2005).

Para garantizar la calidad son esenciales prácticas adecuadas de cultivo, cosecha o colecta, secado, fragmentación y condiciones de almacenamiento. Ya que puede ocurrir que las drogas cumplan con las descripciones dadas en las Farmacopeas y no posean la calidad adecuada, debido al deterioro por una recolección, embarque o almacenamiento defectuoso, o la alteración debida a la edad. La desecación excesiva hace a las hojas muy frágiles y causa rotura de las mismas en el transporte (Trease y Evans, 1984; Paredes, 2005).

Para asegurar la identidad de la materia prima a utilizar, debe tomarse en cuenta aspectos tales como:

1. Análisis botánicos: Para determinar especie y parte medicinal usada, así como la forma de recolección de la misma (Anexo 1)
2. Características físico-organolépticas: Consisten en analizar a través de los sentidos y estereoscópicamente el secado, acabado, contaminación por larvas e insectos, características de olor y porcentaje de humedad (métodos gravimétricos).
3. Aspectos microbiológicos-sanitarios: Consiste en cuantificar el número más probable por gramo (NMP/g) de coliformes de acuerdo al método de fermentación de 9 tubos. Para ello se prepara una suspensión en agua fría estéril de la materia vegetal, se filtra e inocula 1.0, 0.1 y 0.01 ml de muestra en tubos con 10 ml de caldo lactosado para coliformes totales, y en bilis verde brillante para coliformes fecales (Cáceres, 1996)

Los productos fitofarmacéuticos, requieren de exámenes adicionales que incluyan recuento aeróbico en placa y otros análisis. El material bien procesado presenta

coliformes totales < 100 NMP/g, sin coliformes fecales y menos de 10 % de humedad (Cáceres, 1996).

J. Parámetros de calidad para drogas vegetales y derivados

La Farmacopea Europea incluye dentro de sus monografías parámetros que describen la calidad de un producto, y que se listan a continuación (Paredes, 2005).

1. Autenticación

La autenticación se refiere a la confirmación de la identidad del material vegetal, en base a los caracteres macroscópicos y organolépticos, por comparación del material con especímenes de herbario, por inspección visual o microscópica, o bien por comparación con monografías de la farmacopea o con literatura de estándares (Trease y Evans, 1984; Paredes, 2005).

Incluye la definición clara, precisa y científica de la planta; haciendo referencia a la forma física en que esta se encuentra, ya sea como planta entera, fragmentada o picada. La definición debe especificar de qué está compuesta la materia médica y si se encuentra fresca o seca. También debe incluir el nombre científico botánico, de acuerdo al sistema binomial (género, especie, variedad y autoridad) (Paredes, 2005).

El material vegetal debe estar libre de impurezas tales como tierra, polvo, suciedad, hongos, insectos, contaminación animales y libre de procesos de putrefacción (Paredes, 2005).

2. Identidad

Se refiere a la evaluación de características organolépticas, macroscópicas y microscópicas, así como al perfil cromatográfico, reacciones de identificación y parámetros de pureza entre los que se incluyen humedad, cenizas, constantes físicas, materia extraña, disolventes residuales, contaminación microbiana, metales pesados, residuos de pesticidas, aflatoxinas, radiactividad, adulteraciones, valoración y contenido de principios activos o marcadores (Paredes, 2005).

a. Evaluación organoléptica

Se refiere a la evaluación de material vegetal por medio de los sentidos, incluye la determinación de olor, gusto, tacto, fractura y ocasionalmente el sonido o chasquido. El color de la materia vegetal puede revelar información útil sobre el cuidado postcosecha. Una droga secada rápida y cuidadosamente retiene su frescura, mientras que el follaje resecado se presenta quebradizo (Paredes, 2005; Medinilla, 2009).

b. Características macromorfológicas de la hoja

Estas características hacen referencia a las diferentes estructuras de la planta, y especialmente a la anatomía de la hoja. Pueden evaluarse a través del sentido de la vista o bien con la ayuda de un estereoscopio, entre los aspectos tomados en cuenta se describen los siguientes:

- i) Bordes de la hoja: La hoja puede poseer bordes enteros, lisos, o dentados. Los dientes varían en tamaño y forma entre las diferentes plantas, aunque suelen tener cierta orientación clara con respecto a las terminales de las venas marginales de los limbos.
- ii) Pecíolo: Tallo de la hoja que sirve de enlace entre el limbo foliar y el tallo de la planta, en algunos casos puede faltar del todo, y la hoja es denominada sésil. Presenta un número variable de haces, y en el caso de que el número de haces sea superior a uno, se disponen en semicírculo.
- iii) Lámina foliar o limbo: Porción por lo regular aplanada y extendida en el extremo del pecíolo. Varía en forma, tamaño, carácter de los bordes y cantidad de lobulación y divisiones foliares. La forma puede llegar a ser desde lineal a circular, con muchas formas intermedias tales como lanceoladas, acorazonadas, ovaladas y otras. Las características externas de la lámina son en general, ápice, margen y base, estas características son bastantes variables por lo cual hay una infinidad de nombre para cada variación.

- iv) Nervios o nervaduras foliares: Ramificaciones o haces que recorren el pecíolo y penetran en el límite foliar. Su disposición varía en la hoja siendo de tipo paralela, reticular, monocotiledónea o dicotiledónea. La hoja típica dicotiledónea se compone de dos partes principales, lámina y pecíolo; mientras en monocotiledóneas las nervaduras van en un solo sentido sin formar red.
- v) Espículas: Situadas en la base de la hoja en pequeños apéndices verdes, pueden ser rudimentarias y cumplir sólo la función de proteger la yema axilar, o pueden estar provistas de parénquima clorofiliano que les permiten realizar la misma función de la hoja normal (Gola, Negri y Cappellett, 1965; Fuller. Carothers, Payne y Balbach, 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987).

c. Características macromorfológicas del tallo

En el tallo deben describirse estructuras macroscópicas como el nudo, que es la región del tallo en la cual se insertan las hojas; el entrenudo, que comprende la región entre dos nudos; y la yema que se encuentra en los nudos y cuya función es formar ramas. En caso de que la planta presente tallos modificados deben describirse estructuras tales como:

- i) Rizomas: Tallos horizontales subterráneos.
- ii) Cormos: Es un tallo grueso vertical y subterráneo que se desarrolla a partir de yemas axilares que almacenan una gran cantidad de alimento, este alimento almacenado da paso al desarrollo del vástago foliar.
- iii) Bulbos: Esta estructura es similar a los cormos, pero difiere en que almacenan sus nutrientes en escamas foliares, la porción del tallo es igualmente pequeña y tiene por lo menos una yema central terminal que produce un tallo erecto y foliar.

- iv) Tubérculos: Los tubérculos son porciones alargadas y terminales de los rizomas delgados.
- v) Zarcillos: Son estructuras enroscadas y delgadas, sensibles a los estímulos por contacto; cuya función es sujetar a la planta dándole soporte. Hay dos tipos de zarcillos, unos que derivan de hojas y otros derivados de tallos.
- vi) Cladodios: Estas estructuras son tallos verdes que tienen apariencia de una hoja; pueden producir flores, frutos y hojas temporales.
- vii) Espinas: La mayoría de estas estructuras son proyecciones o partes modificadas de tallos; en algunos casos las raíces pueden modificarse en espinas.
- viii) Estolones: Son tallos postrados, se arrastran sobre el suelo y en cada uno de sus nudos se forman tanto raíces como vástagos (Fahn, 1982).

En caso de que las plantas presenten flor deben describirse lo más detalladamente posible estructuras como el tálamo o receptáculo, cáliz (sépalos), corola (pétalos), androceos (estambres), gineceos (pistilos), estilo, estigma, filamento, antera y tépalos, con el fin de proporcionar la mayor cantidad de información que permita la identificación de la planta (Fahn, 1982).

d. Características micromorfológicas

La observación microscópica se emplea para confirmar la identidad de la planta. La descripción incluye características de los diferentes tipos de tejidos, estomas y tricomas o fibras. La microscopia usando las esporas de licopodio como diluyente indicador, puede emplearse para propósitos cuantitativos (Paredes, 2005).

La microscopia se lleva a cabo posteriormente a la realización de finos cortes histológicos; los cuales pueden ser llevados a cabo en material duro o seco. La división del cuerpo vegetal en diferentes tejidos consiste en la fragmentación de pequeñas porciones de

la planta a estudio, luego de ser sumergida o amoldada en diferentes sustancias (Ballvé, Saraiva, Mentz, Silva y José, 1995; Gattuso, 1999a).

Para su realización puede colocarse la materia en cámara húmeda (desechada con agua y antisépticos para evitar hongos), o bien puede exponerse a vapores de agua, ebullición en agua, maceración en agua, glicerina o glicerina/alcohol/agua en parte iguales por 8 a 30 días. Los cortes son realizados manualmente o con micrótopo, pudiendo ser transversales, perpendiculares o longitudinales (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999a).

Los tejidos en el cuerpo vegetal se clasifican en base a su situación topográfica en la planta; según los tipos de células, función; lugar y modo en el que se originan y por su estado de desarrollo. Pueden dividirse también en tejidos simples y complejos, de acuerdo al tipo celular que tenga. Un tejido simple consta de un solo tipo de células homogéneas, mientras que un tejido complejo consta de dos o más tipos celulares. Son tejidos simples el parénquima, colénquima y esclerénquima, mientras que el xilema, floema y la epidermis son tejidos complejos (Fahn, 1982).

Dentro de los tejidos que deben ser descritos microscópicamente en una planta se encuentran:

- i) Tejido Fundamental o Parenquimático. Es la masa principal del cuerpo de las plantas. Sus células tienden a ser redondeadas, dejan espacios intercelulares entre ellas; la pared celular es secundaria y delgada, citoplasma con vacuola y núcleo parietal. Se le encuentra rellenando los espacios entre otros tejidos que componen un órgano.
 - Parénquima asimilador clorofiliano: Se presenta en el mesófilo de las hojas; sus células son cilíndricas, redondeadas e irregulares, la pared celular es delgada y el citoplasma presenta abundantes cloroplastos.
 - Parénquima almacenador o de reserva: Tejido incoloro de pared celular delgada, espacios intercelulares muy pequeños, citoplasma con abundantes granos de almidón, de aleuronas, depósitos de aceites u otros ácidos grasos.

- Parénquima acuífero: Sus células son redondeadas o asimétricas con pequeños espacios intercelulares; citoplasma con vacuolas de mucílago que no permite la salida del agua. Se presenta en plantas carnosas, suculentas, etc.
 - Parénquima aerífero o aerénquima: Sus células son muy irregulares de tal forma que la superficie de contacto es escasa; están provistos de amplios espacios intercelulares, facilitan el intercambio de gases en muchas plantas anfibias o palustres y acuáticas. Su sistema de espacios intercelulares esta en comunicación con el aire atmosférico por medio de estomas situados en las hojas y tallos (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Cronquist, 1987).
- ii) Tejido Protector: Constituido por una sola capa de células; se origina en la periferia del cono vegetativo. Cubre órganos o se ubica internamente entre tejidos adultos diferenciados.
- Tejido epidérmico: La epidermis es una capa sencilla de células que forma la piel superficial de la hoja. Sus funciones principales consisten en la protección de los tejidos internos contra la pérdida excesiva de humedad y la admisión de bióxido de carbono y oxígeno hacia tejidos internos.

En algunas hojas proporciona protección contra la entrada de parásitos. Las paredes externas de las células epidérmicas están con frecuencia engrosadas y suelen estar recubiertas de una capa de cutina cérea, que es secretada sobre la superficie exterior de las paredes celulares por los protoplastos de células epidérmicas; se encarga de asegurar la eficiencia de la epidermis en relación con la conservación de la humedad.

Las células epidérmicas por lo general carecen de cloroplastos y son incoloras, pero en algunas plantas presentan pigmentos como antocianinas que son glucósidos que tienen un pH determinado y varían en color del azul o violeta al púrpura o rojo. Las capas epidérmicas superior e inferior de las

hojas suelen ser muy parecidas en su estructura. La epidermis también presenta otros tipos celulares:

- ✓ **Estomas:** Par de células de forma reniforme o semilunar que están unidas por su cara ventral o interna, forma un espacio esquizógeno llamado ostiolo o poro. Permiten el intercambio gaseoso entre los tejidos internos de la hoja y la atmósfera externa. El número de estomas por unidad de superficie varía según la especie, y se encuentran distribuidos tanto en el haz o envés de una hoja.
- ✓ **Células guardianas:** células especializadas de la epidermis, poseen forma de frijol, vistas en superficie, y se presentan en pares, distribuidos entre las numerosas células epidérmicas ordinarias, dentro de ellas se encuentran los estomas.
- ✓ **Pelos o tricomas:** Formación de células que se desarrollan sobre la epidermis; pueden ser unicelulares o pluricelulares, se diferencian varios tipos formados por células vivas o muertas (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).
- **Rizodermis:** Constituido por una sola capa de células producido por el meristemo apical de la raíz, de pared celular delgada, permeable; no producen nunca cutina, su permeabilidad es necesaria para adquirir sustancias disueltas en el agua (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).
- **Endodermis:** Tejido protector primario interno; conformado por una sola capa de células prismáticas sin espacios intercelulares; la pared celular presenta fibras elásticas de celulosa, dispuestas en forma de faja envolviendo a la célula en forma longitudinal, dándole características de flexibilidad o atracción y se le llama banda de Gaspary (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

- Tejido mesófilo: Consta de células parenquimatosas de pared delgada, llamadas clorénquima, que en forma característica contienen numerosos cloroplastos y constituyen el tejido elaborador de alimento de las hojas (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

Las células mesofílicas más cercanas de la epidermis superior son cilíndricas, dispuestas perpendicularmente a la superficie de la hoja, constituyendo la capa empalizada del mesófilo (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

La empalizada cuenta con una o dos capas, en su parte posterior se encuentra un segundo grupo de células parenquimatosas de forma distinta, las cuales son típicamente muy variables en forma y están dispuestas con numerosos espacios de aire entre ellas. Estas células constituyen la capa esponjosa del mesófilo, estos espacios facilitan la difusión de gas a través de los tejidos internos de las hojas (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

- iii) Tejido Mecánico o de Sostén: Presentan características particulares que permiten a sus órganos, consistencia, rigidez, resistencia, flexibilidad, frente a factores externos como el viento, y que mantiene erecto el tallo y ramas.
 - Colénquima o colenquimático: Tejido subepidérmico distribuido regularmente formando bloques. Es el primero en diferenciarse; constituido por células prismáticas, su pared celular está engrosada parcialmente; citoplasma con cloroplastos, vacuola y núcleo parietal; generalmente no presenta espacios intercelulares; se encuentra en el vástago (brotes), en el tallo o en las hojas que sean fuertes. Este tejido puede ser de tipo:

- ✓ Angular: El engrosamiento de la pared celular se da sólo en los ángulos por adición de capas de celulosa y el resto de la pared celular permanece delgada por lo que el lumen se hace redondeado. Presente en la periferia de la corteza.
 - ✓ Laminar: Aquí el engrosamiento de la pared celular se da por adición de capas tangenciales al radio de origen y las paredes laterales permanecen delgadas; citoplasma hialino sin cloroplastos. Presente en la corteza media (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).
 - Esclerénquima o esclerenquimático: Está compuesto por células pétreas o esclereidas, las cuales tienen forma poliédrica. Después de haber crecido y desarrollado su protoplasma, mueren, constituyendo un tejido muerto y así integrando la estructura de los órganos como tejido muerto (Gola *et al.*, 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).
 - Fibras: Células que crecen en un solo sentido (por sus ápices) y dan por resultado células fusiformes que terminan en punta, alargadas (prosenquimáticas), la longitud predomina sobre el diámetro; la pared celular es secundaria, muy engrosada y celulósica. Las fibras forman pilares desde la base dándole flexibilidad a la planta (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).
- iv) Tejido Conductor: Consta de nervios (haces vasculares que arrancan de los haces del pecíolo). Los nervios principales aparecen en relieve en las superficies inferiores de las hojas y a menudo como depresiones someras en las superficies superiores (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

Cada nervio consta de xilema (vasos y traqueidas) y floema (tubos cribosos, principalmente), que conducen agua y minerales, respectivamente, a los limbos de las hojas, y alimentos manufacturados en el mesófilo hacia abajo al pecíolo, para ser transportados al tallo y las raíces (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

En las hojas de la mayoría de plantas, las células del xilema forman la porción superior de los nervios, es decir la porción más cercana de la epidermis superior, en tanto que las células de floema están situadas en las porciones inferiores (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

Cada nervio está rodeado por un grupo de células, conocido como vaina de haz, que dan apoyo y resistencia al nervio; estas células son en ocasiones de pared gruesa (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

- Floema o tejido liberiano: Formado por células prismáticas que presentan los tabiques engrosados y perforados. Las células son tubulosas de sección poligonal que se disponen unas sobre otras formando columnas que recorren desde la raíz hasta los ápices de las hojas de las ramas (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

Esta pared celular con las perforaciones se ve reticulada y se le llama placa cribosa. El protoplasma ha sufrido una diferenciación en estas células, el citoplasma es denso y tempranamente pierden el núcleo cuyas funciones son ejercidas por el núcleo de otras células hermanas (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

Estas células tubulosas anucleadas se denominan tubos liberianos o tubos cribosos cuya función es trasladar los alimentos producidos en los tejidos

verdes por toda la planta (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

- Xilema o tejido leñoso: Constituido por células poliploides que al crecer se hacen diametralmente anchas y cortas en altitud o profundidad. Este tejido forma los vasos generados por el meristemo remanente primario (Gola et al., 1965; Fuller et al., 1974; Fahn, 1982; Cronquist, 1987; Gattuso, 1999a).

e. Perfil cromatográfico

La cromatografía se define para fines de la Farmacopea estadounidense como el procedimiento mediante el cual se separan por extracción fraccionada, adsorción o intercambio de iones sobre un sólido poroso, los principios activos y los materiales inertes que se hallan en los preparados farmacéuticos, mediante el flujo de disolventes (Medinilla, 2009).

También es definida como el método de análisis en el que el flujo de un disolvente líquido o gaseoso (fase móvil) promueve la separación de sustancias mediante migración diferencial desde una zona inicial estrecha, en un medio poroso adsorptivo (fase estacionaria) (Medinilla, 2009).

Esta técnica ha sido utilizada oficialmente desde los años 70 para la identificación de las drogas naturales, así como para establecer su grado de pureza. Los tipos más comunes empleados son: la cromatografía en columna, papel, en capa fina, líquida de alta resolución (HPLC) y la de gases. En general, la cromatografía en columna se utiliza cuando se cuenta con grandes cantidades de material a investigar (Medinilla, 2009).

Sin embargo, la cromatografía en papel y en capa fina son las técnicas más utilizadas para propósitos de identificación, debido a que conllevan las siguientes ventajas: bajo costo, requieren muy poca inversión en instrumentos y reactivos; consumen poco tiempo para su realización (15 min. a 1 hora); requieren cantidades mínimas de muestra (aproximadamente 0.1g); es poco probable obtener resultados falsos debido a la presencia de componentes

secundarios y son técnicas simples que requieren de mínimo espacio físico (Medinilla, 2009).

En general el análisis se lleva a cabo para determinar los constituyentes activos principales de la planta, entre los que se encuentran alcaloides, flavonoides, antraglicósidos, saponinas, arbutina, aceites esenciales, glicósidos cardiotónicos, cumarinas y ácidos fenolcarboxílicos, principios amargos y valepotriatos (Ballvé et al., 1995; Paredes, 2005).

i) Fundamento del método de cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina es un método de fisicoquímico que consiste en la separación de una sustancia entre dos fases inmiscibles. Para su realización se coloca sobre una fina capa de material granular (fase estacionaria) la mezcla a separar en forma de solución, aplicándola ya sea como manchas o como bandas (Trease y Evans, 1984; Medinilla, 2009).

Luego la placa es posicionada dentro de una cámara que contiene un disolvente adecuado (fase móvil) y se cierra debidamente. La separación de la mezcla problema se realiza mediante migración capilar. Luego que el disolvente ha ascendido una distancia de 10 cm. Se marca con lápiz el frente del disolvente y se calcula el valor de R_f empleando la siguiente fórmula:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida de muestra (desde línea base)}}{\text{Distancia recorrida del disolvente (desde línea base)}}$$

Las sustancias incoloras pueden ser detectadas mediante la observación bajo luz ultravioleta, o mediante la adición de un reactivo revelador que reaccione con la sustancia que se desea detectar (Trease y Evans, 1984; Medinilla, 2009).

f. Aceites esenciales

Los aceites esenciales, aceites volátiles, óleos etéreos o esencias son sustancias de origen natural que en su mayoría provienen de especies vegetales. Se caracterizan por su

alta volatilidad y por producir un efecto de protección en la planta (Genaro, 1998; Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003; Ocampo *et al.*, 2007).

En cuanto a su composición química los aceites esenciales son una mezcla compleja y muy concentrada de compuestos aromáticos que se volatilizan a temperatura y presión ambiental, pueden contener cientos de componentes, entre los que se encuentran hidrocarburos, ácidos, alcoholes, aldehídos, cetonas, ésteres, fenoles, lactosas y distintos compuestos orgánicos de nitrógeno y azufre. Algunos ejemplos de este tipo de compuestos son: linalol, acetol y mentol entre otros (Genaro, 1998; Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003; Ocampo *et al.*, 2007).

Las esencias se sintetizan y almacenan en diversos órganos: flores, hojas, brotes, tallos, madera, frutos, semillas, corteza, resinas, raíces y rizomas. La calidad de los aceites esenciales está determinada por su composición química, las propiedades fisicoquímicas, las características aromáticas olfativas y el grado de pureza o cantidad de residuos contaminantes (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003).

Su calidad se puede ver afectada por factores externos como el clima, suelo, incidencia de plagas, enfermedades, malezas, condiciones técnicas de cultivo, cosecha y manejo post cosecha. Entre los factores internos que pueden influir en la composición y calidad del aceite esencial están las variedades o selecciones, la etapa de desarrollo de la planta, edad y parte vegetal que se utilice (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003).

Diferentes estudios han demostrado en los últimos años, la existencia de polimorfismo químico entre plantas de la misma especie, es decir, especies que producen aceites esenciales con composiciones diferentes, debido a las diversas condiciones climáticas donde crecen. Estas plantas pueden agruparse de acuerdo a orígenes comunes en quimiotipos, de manera que puede seleccionarse la procedencia que producirá los mejores resultados en cuanto a composición y a rendimiento (Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria, 2003; Jayes *et al.*, 2006).

Los aceites esenciales son usados en muchas industrias para proporcionar aromas y olores especiales a productos como perfumes, cosméticos, jabones, condimentos, dulces, etc. Otros usos consisten en enmascarar olores desagradables en ambientes de trabajo e instalaciones sanitarias, también se utilizan como solventes y como insumos en productos de las industrias de plásticos, tintas, caucho, insecticidas y otras (Jayes et al., 2006).

Muchos aceites constituyen compuestos de partida para síntesis de sustancias útiles en las industrias química y farmacéutica. Otros componentes tienen propiedades farmacológicas y son usados como antibacterianos, analgésicos, sedantes, expectorantes, estimulantes y estomáquicos en la composición de medicamentos (Jayes et al., 2006).

En cuanto a las técnicas de extracción, las más conocidas son el arrastre con vapor de agua, la hidrodestilación y la extracción con solventes. Para propósitos analíticos la hidrodestilación con aparato Neoclevenger es la técnica más utilizada (Jayes et al., 2006; Medinilla, 2009).

g. Reacciones de identificación

Las diferentes sustancias en los tejidos vegetales, ya sea como metabolito primario o secundario, formando parte estructural de la célula o como sustancias de reserva, pueden identificarse mediante pruebas histoquímicas, es decir, por medio de la aplicación de colorantes específicos que reaccionan y producen coloraciones o precipitados determinados que pueden reconocerse microscópicamente (Gattuso, 1999b).

Dentro de este tipo de reacciones se encuentran la detección de paredes celulósicas, lignificadas, suberificadas y cutículas, la presencia de granos de almidón, granos de aleurona, cristales de carbonato y oxalato de calcio, alcaloides, grasas, aceites volátiles, resinas, mucílagos, taninos y otros (Paredes, 2005; Sandoval y Rojas, s.f.).

Estas pruebas pueden ser realizadas tanto con material fresco, de herbario y conservado; siendo preferible el estado fresco. La determinación de alcaloides se realiza empleando el reactivo de Dragendorff, el cual produce un precipitado de color rojo ladrillo (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999b; Sandoval y Rojas, s.f.).

Para la determinación de cristaloides de aleurona se emplea el reactivo Naranja G, el cual otorga a los cristaloides un color rojo-anaranjado (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999b; Sandoval y Rojas, s.f.).

Los almidones se evalúan empleando el reactivo de lugol a través de una coloración azul o azul-violácea. La prueba de cloruro de cinc se emplea para la determinación de celulosa y lignina, las cuales se tiñen de color azul o violeta y amarillo oro, (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999b; Sandoval y Rojas, s.f.).

En lo referente a la determinación de grasas y aceites los reactivos indicados son el Sudan III o Sudan IV, que otorgan a dichas estructuras una coloración roja al igual que a la cutina y suberina (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999b; Sandoval y Rojas, s.f.).

Otra forma de identificación de lignina la constituye la prueba de floroglucina que le otorga una coloración roja a dicho compuesto. En cuanto a los mucílagos, estos son determinados por una coloración azul Francia debida a la tinción con azul de cresil al 1 %. El oxalato de calcio y las sustancias pécticas son determinadas con el reactivo de acetato cúprico y rojo de rutenio al 0.1 %, respectivamente (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999b; Sandoval y Rojas, s.f.).

Para la identificación de quitina el reactivo de elección es el lugol y cloruro de cinc, pues favorece el desarrollo de una coloración violeta a dicho compuesto. Las saponinas son determinadas mediante ácido sulfúrico concentrado, mientras que los taninos pueden ser evidenciados por acción del sulfato férrico (Ballvé et al., 1995; Gattuso, 1999b; Sandoval y Rojas, s.f.).

h. Parámetros de pureza

El análisis de pureza permite determinar la ausencia de contaminantes químicos, biológicos y físicos. Algunos parámetros a determinar son:

i) Materia extraña

Se refiere a cualquier material o parte de la planta, diferente a la oficialmente reconocida. Los límites aceptables de materia extraña equivalen al 2 % de la muestra. Existen algunos tipos que aunque se encuentren dentro de los límites permitidos son causa suficiente para desechar la droga, tal es el caso de excretas de animales, insectos o mohos (Paredes, 2005; Sandoval y Rojas, s.f.).

La materia extraña esta constituida por otras partes de la planta (órganos extraños), que no están incluidas en la definición. Por materia inorgánica extraña, se entienden las mezclas minerales adheridas o no al producto vegetal, como tierra, piedras, arena y polvo (Paredes, 2005; Sandoval y Rojas, s.f.).

ii) Material volátil

Son los aceites volátiles presentes en plantas como menta, orégano, albahaca y otras, su contenido puede ser determinado por destilación a vapor o hidrodestilación como un parámetro importante de calidad (Paredes, 2005).

iii) Humedad

Se refiere a la cantidad de agua que posee la materia cruda; permite saber si el secado del material vegetal fue el idóneo para conservar la calidad y prevenir la acción de enzimas, bacterias y el enmohecimiento. El contenido de humedad es variable debido a que gran parte de las plantas son higroscópicas en mayor o menor intensidad (Paredes, 2005).

El método comúnmente empleado para la determinación de humedad es el de la pérdida por desecación, que consiste en someter la muestra al calor de una estufa a 100 °C hasta peso constante; este método se emplea para drogas que contienen pequeñas cantidades de materias volátiles. Sin embargo, cuando las materias volátiles son mayores del 1 % debe utilizarse métodos químicos, basados en destilación, cromatografía de gases, espectrofotométricos y electrométricos (Paredes, 2005).

iv) Cenizas

Se toma como contenido de cenizas totales, al residuo que queda después de incinerar la materia vegetal. Este residuo representa las sales inorgánicas que normalmente contiene la planta y que lleva adheridas (Paredes, 2005).

El contenido de cenizas varía considerablemente en las diferentes drogas, pero la variación es pequeña en el mismo tipo de droga, por lo que sirve de base para juzgar la identidad y pureza de la misma, también funciona como indicador del cuidado que se ha tenido en la preparación y proporciona información sobre una posible adulteración (Paredes, 2005).

Las cenizas insolubles en ácido constituyen una fracción de las cenizas totales que no se solubilizan en ácido clorhídrico, el cual disuelve el carbonato de calcio y los cloruros de metales alcalinos, dejando un residuo constituido casi totalmente por sílice procedente de la arena y tierra adherida a la droga. La regulación de la temperatura es un factor muy importante en este tipo de determinaciones (Paredes, 2005).

v) Constantes físicas

La densidad, rotación óptica, viscosidad, índice de refracción, etc., son especialmente útiles para identificar aceites y grasas, oleorresinas, bálsamos y sustancias similares (Paredes, 2005).

vi) Contaminación microbiana

Las plantas medicinales normalmente llevan un gran número de bacterias y hongos, provenientes del suelo. Los límites aplicables a los comestibles son aplicados a las drogas vegetales, especialmente los límites para bacterias patógenas y aflatoxinas (Paredes, 2005).

vii) Residuos tóxicos

Los residuos tóxicos en las drogas vegetales resultan del uso de pesticidas durante el cultivo o fumigación cuando tenía lugar el almacenamiento. La contaminación del suelo o

del agua en un área puede resultar de residuos de pesticidas en plantas silvestres, las que de otro modo están libres de los mismos (Paredes, 2005).

viii) Metales pesados

La contaminación de los materiales vegetales con arsénico, plomo y cadmio, pueden ser resultado de la recolección de plantas en regiones contaminadas. Los límites de estos metales deben estar dentro de las especificaciones (Paredes, 2005).

ix) Radioactividad

La contaminación radioactiva puede ocurrir como resultado de efluentes industriales, y en tales casos deben asegurarse las pautas de la OMS (Paredes, 2005).

K. Calidad, factores ambientales y distribución geográfica

La calidad de materias vegetales medicinales derivadas de la misma especie puede variar de forma notable en función del emplazamiento, debido a la influencia del suelo, el clima y otros factores (OMS, 2003).

Deben tenerse en cuenta estas diferencias de calidad, que pueden manifestarse en el aspecto físico o en variaciones de la composición, dado que la biosíntesis de los componentes puede verse afectada por condiciones ambientales extrínsecas, incluidas las debidas a variables ecológicas y geográficas (OMS, 2003).

Las condiciones climatológicas, como la duración del día, la pluviosidad (disponibilidad de agua) y la temperatura en el campo, influyen en las cualidades físicas, químicas y biológicas de las plantas medicinales (OMS, 2003).

Deben tenerse en cuenta los datos previos conocidos sobre la duración de la luz solar. La pluviosidad media y la temperatura media, incluidas las diferencias entre las temperaturas diurna y nocturna, que también influyen en las actividades fisiológicas y bioquímicas de las plantas (OMS, 2003).

1. Fenología

La fenología es la ciencia que se dedica al estudio de la influencia de los fenómenos climáticos en los ciclos vitales. Permite determinar los límites de tolerancia de una especie vegetal localizada en una región geográfica determinada en la que vive y se reproduce, incluye temperatura, precipitación y las propiedades del suelo de dicha región (Herrera, 2009).

También es considerada el estudio de los fenómenos biológicos acomodados a cierto ritmo periódico, como la brotación, la florescencia, la maduración de los frutos, etc. Estos fenómenos se relacionan con el clima de la localidad en que ocurren y viceversa; de la fenología se pueden sacar consecuencias relativas al clima y sobre todo al microclima (Font, 1982).

Etimológicamente es el estudio de los aspectos que suceden en la vegetación de una especie. Dependen de sus características propias y del ciclo de dinamismo del medio, sobre todo y más generalmente del ciclo climático (Font, 1982).

En algunos casos la evolución ha llevado a que plantas que viven en regiones geográficas alejadas y que pertenecen a distintas familias presenten características externas parecidas, ya que se han visto obligadas a adaptarse a condiciones ecológicas semejantes (Herrera, 2009).

Debido a la plasticidad fenotípica, que es la capacidad de un organismo de producir fenotipos diferentes en respuesta a cambios en el ambiente, las variaciones pueden ser a nivel de individuo, a nivel de la población y a nivel de la especie. Todo depende del tiempo y de la magnitud del cambio ambiental (Granados, 2009).

2. Elementos y factores del clima relacionados con la producción de metabolitos

La concentración de principios activos y/o metabolitos secundarios en una planta, depende de aspectos genéticos propios de cada especie, estímulos del ambiente (clima,

suelo) y de la respuesta de la planta ante organismos vivos. Estos estímulos son de suma importancia para la producción y concentración de estas sustancias (Ocampo et al., 2007).

Esta relación entre medio y contenido de principios activos puede variar por el efecto de la domesticación, causado por diversas actividades relacionadas con el cultivo (cambio de clima, suelos época de siembra, cosecha, etc). Para obtener plantas medicinales de calidad hay que conocer cuál es la composición y en que órgano están concentrados los principios activos (Ocampo et al., 2007),

El clima de una zona es el resultante de múltiples aspectos físicos de la atmósfera (humedad, viento, radiación solar, temperatura y precipitación) que se manifiesta en períodos prolongados y que en general se analizan cada 30 años; en contraposición, el tiempo atmosférico se refiere a las características de la atmósfera en períodos de tiempo cortos (días, semanas, meses) (Ocampo et al., 2007),

a. Temperatura

La temperatura es el elemento del clima de mayor importancia en el control y desarrollo del metabolismo de las plantas. Cada especie medicinal ha llegado a adaptarse a su propio entorno natural; no obstante las plantas tienen la capacidad de existir en una amplia variedad de temperaturas (Ocampo et al., 2007).

Algunas plantas de regiones templadas, crecen en regiones tropicales con resultados satisfactorios durante el verano (época sin precipitación), pero en el invierno (época de lluvias) su crecimiento disminuye y está más propensa al ataque de enfermedades y plagas. Su adaptación es más satisfactoria en regiones subtropicales con temperaturas más adecuadas y menos precipitación (Ocampo et al., 2007).

Para el cultivo de plantas medicinales hay que tener en cuenta no solo la temperatura máxima sino el intervalo de variación durante el día, la noche y a lo largo del año. La respuesta fisiológica de las plantas a esta variación es lo que se denomina fotoperiodismo. Esta variación influye en el crecimiento de la planta (Ocampo et al., 2007).

b. Precipitación

La precipitación es un elemento del clima que tiene influencia en el tipo de vegetación. De acuerdo con sus requerimientos, las plantas medicinales pueden darse naturalmente en bosque seco o en húmedo. La precipitación debe analizarse considerando la cantidad anual, su distribución a lo largo del año y el efecto que tiene sobre la humedad relativa, así como la retención del agua llovida en el suelo (Ocampo et al., 2007).

c. Luminosidad

Las plantas medicinales varían mucho en cuanto a sus necesidades de luz, tanto en duración como en intensidad. En su estado silvestre las especies medicinales se establecen en sitios que satisfacen las demandas de luz y sombra. Por esta razón es importante analizar este factor cuando se están realizando acciones de domesticación. Algunas investigaciones han demostrado que la luz es un factor que contribuye con la formación de heterósidos o de alcaloides. Las especies medicinales responden directamente al efecto del fotoperiodismo (día largo versus día corto) (Ocampo et al., 2007).

d. Altitud

Otro de los factores del clima que está relacionado con la calidad de las plantas y su composición es la altitud con respecto al nivel del mar. Algunas especies son propias de climas marítimos, mientras que otras están en el rango de 800 – 1800 m, y otras se encuentran en regiones elevadas de América. Estas últimas, crecen bien en zonas bajas pero prácticamente no producen alcaloides (Ocampo et al., 2007).

Posiblemente el mayor obstáculo para el cultivo de plantas medicinales en el trópico, tiene que ver con el efecto que produce la relación altitud-temperatura. Es evidente que para establecer cultivos de plantas nativas en su propio ambiente, los factores que influyen en su calidad no son un impedimento (Ocampo et al., 2007).

L. Herborización

La herborización es un proceso que tiene como objetivo coleccionar material vegetal conservando en la medida de lo posible las características de las muestras; consiste en el prensado, secado y montaje de las plantas para su integración a un herbario (Programa de conservación de la biodiversidad y desarrollo sustentable en los humedales del este, (PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

1. Colecta

Para este proceso se prefiere utilizar ramas no mayores de 42 cm que presenten partes reproductoras (flores o frutos), con al menos tres hojas, para apreciar la filotaxia. Si se trata de plantas pequeñas, es recomendable coleccionar varios individuos (Medinilla, 2009; PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

Normalmente este procedimiento se realiza por duplicado para prevenir la destrucción durante el traslado o en el proceso de herborización). Los frutos y semillas se coleccionan en sobres, o en su defecto, en bolsas plásticas (Medinilla, 2009; PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

2. Prensado y secado

Se coloca los ejemplares coleccionados con cuidado entre hojas de papel periódico; asegurándose que la planta esté acomodada en un sentido haz-envés, para poder observar las formas de las hojas por ambos lados (PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

A continuación se coloca el papel periódico sobre cartón, y se agrega más periódico y cartón, hasta prensar todas las hojas con suficiente presión. Para secar la muestra, dejar 24 horas en estufa eléctrica a 40° C, empleando una prensa metálica (Herman, 1984; PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

Si la prensa es de madera sujetar las dos tablas de la misma mediante correas, y colocar en la secadora, donde se proporciona calor por aproximadamente tres a cuatro días (Herman, 1984; PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

Otra alternativa es el secado al aire, en donde se combinan la acción del aire y sol, sin embargo es necesario cambiar periódicamente el papel, a medida que se va absorbiendo la humedad (Herman, 1984; PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

3. Montaje e identificación

Cuando los ejemplares se encuentran totalmente secos, se colocan sobre una cartulina blanca utilizando cinta de papel engomada, hilo blanco u otro pegamento. También debe agregarse una ficha de herbario que identifique el material botánico y que describa los datos anotados durante la colecta (Herman, 1984; PROBIDES, s.f.; Real, s.f.).

IV. JUSTIFICACIÓN

Guatemala posee una enorme biodiversidad de flora, la cual se constituye como un recurso potencial para la investigación, debido a que muchas especies han sido utilizadas como alternativas para tratar enfermedades, en las artes culinarias o a nivel industrial.

La comercialización y uso de plantas falsas o adulteradas, pueden ocasionar una situación perjudicial en la enfermedad de un paciente, retardando o empeorando su curación, además de la pérdida de confianza en la actividad terapéutica de las plantas.

Litsea guatemalensis es una planta propia de Guatemala, utilizada en forma similar e indistinta al laurel europeo (*L. nobilis*); se le atribuyen múltiples propiedades que le confieren versatilidad de uso a nivel culinario, comercial y medicinal. Se comercializa en muchos lugares, aunque su identidad puede ser dudosa, ya que se confía en las características organolépticas para asegurar la naturaleza de la misma.

Por lo anterior es necesario documentar sobre el material vegetal, como materia prima, de *L. guatemalensis*.

La descripción de características de identidad, micromorfología, histoquímica y rendimiento de aceites esenciales de *L. guatemalensis*, procedente de diferentes áreas geográficas y en diferentes etapas fenológicas, favorecerá el establecimiento de una metodología de control de calidad que permitirá en el futuro, la utilización de este recurso natural como herramienta terapéutica dentro de los sistemas de salud, o bien su aprovechamiento como condimento o antioxidante.

V. OBJETIVOS

A. General

Establecer los caracteres de identidad y pureza de la especie nativa de Guatemala, *Litsea guatemalensis*, conocida como laurel.

B. Específicos

1. Colectar y depositar en herbario ejemplares de *L. guatemalensis* procedentes de tres localidades diferentes de Guatemala.
2. Identificar y describir las características de identidad, organolépticas, macroscópicas y micromorfológicas del material fresco de *L. guatemalensis*.
3. Establecer los compuestos químicos de *L. guatemalensis*, mediante pruebas histoquímicas
4. Obtener una cartilla micrográfica con los parámetros diagnósticos de *L. guatemalensis* a partir de la características de identidad, organolépticas, histoquímicas, macro y microscópicas.
5. Establecer los parámetros de calidad de la materia vegetal seca de *L. guatemalensis*, tales como porcentaje de humedad y cenizas.
6. Determinar el rendimiento de aceites esenciales de material vegetal de *L. guatemalensis* en sus diferentes etapas fenológicas, de tres localidades distintas.
7. Describir las diferencias entre *L. guatemalensis* y *L. nobilis*.

VI. HIPÓTESIS

Debido a que el presente estudio es de tipo descriptivo no presentó hipótesis de investigación.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo y muestra

1. Universo

Tres especies nativas del género *Litsea* descritas en Guatemala, las cuales se utilizan indistintamente como laurel (*L. glaucescens*, *L. neesiana* (Schauer) Hemsl. y *L. guatemalensis*).

2. Muestra

Material vegetal de *L. guatemalensis* (hojas y tallos) fresco y seco (secado a la sombra), procedentes de tres localidades; municipio San Bartolomé Milpas Altas y Magdalena Milpas Altas, Sacatepéquez; y el municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux.

B. Recursos

1. Humanos

- Tesista responsable: Br. María Elena Chicas Escobar
- Asesora: Licda. María Eugenia Paredes

2. Institucionales

- Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Herbario BIGU, Escuela de Biología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT)
- Laboratorio de Productos Naturales FARMAYA S.A.

C. Materiales y equipo

- Agujas de disección
- Balanza analítica
- Balanza de humedad
- Balón de boca esmerilada de 125 ml
- Frascos de boca ancha grandes y pequeños
- Goteros
- GPS

- Beaker
- Bolsas con cierre hermético
- Bulbos de hule
- Caja de petri
- Cámara fotográfica
- Cinta adhesiva para rotular
- Contador mecánico
- Costales
- Crisoles de porcelana
- Cristalería en general
- Cromatoplaca
- Cuaderno de apuntes
- Cucharillas de metal
- Cubreobjetos
- Desecador
- Destilador tipo Neocleavenger (manta de calentamiento, destilador, balón 1000 ml y refrigerante)
- Encendedor
- Erlenmeyer
- Esmalte de uñas
- Espátula de metal
- Estereoscopio
- Estufa
- Horno
- Hojas de afeitar
- Hojas de papel
- Lápices
- Marcadores
- Material vegetal seco fragmentado
- Microscopio
- Papel limpia lentes
- Papel periódico
- Pinceles
- Pinzas de metal
- Pinzas para crisol
- Pipetas pasteur
- Planchas de poliestireno
- Portaobjetos
- Probetas graduadas
- Prensa de madera
- Rotavapor (balón de evaporación, condensador y balón de colecta)
- Tijeras
- Tubos capilares
- Vasos de precipitar
- Vasos de tinción
- Viales de vidrio de ½ dracma

D. Reactivos

- Ácido sulfúrico
- Agua desionizada
- Agua destilada
- Alcohol etílico 96°
- Naranja G
- Ninhidrina al 0.3%
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de lugol

- Azul de cresil al 1%
- Floroglucina
- Gelatina-glicerina
- Hidrato de cloral al 5%
- Hidróxido de sodio al 5%
- Hipoclorito de sodio al 50%
- Reactivo sudan III
- Safranina al 1%
- Safranina Fast Green
- Sulfato férrico
- Xilol

E. Métodos

1. Recolección de muestra

La ubicación de localidades de colecta de *L. guatemalensis* se basó en la información obtenida del herbario BIGU, herbario de la Facultad de Agronomía de la Universidad de San Carlos de Guatemala, herbario CECON, información proporcionada por FARMAYA y datos publicados en la Flora de Guatemala y en el portal electrónico de Missouri Botanical Garden (Missouri Botanical Garden, 2009) (Anexo 2).

El material vegetal analizado se obtuvo a través de la realización de viajes de campo a tres procedencias distintas, tales como municipio San Bartolomé Milpas Altas y Magdalena Milpas Altas, Sacatepéquez; y el municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux.

Se realizaron tres colectas, correspondientes a las diferentes fases fenológicas de *L. guatemalensis* (desarrollo foliar, inicio de floración e inicio de fructificación); donde se tomó una lectura con el sistema de posicionamiento geográfico (GPS) para referenciar los lugares de colecta.

Se colectó aproximadamente 1 Kg. de partes aéreas de la planta, las cuales fueron transportadas a la ciudad de Guatemala para su procesamiento en el LIPRONAT y en el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

También se colectaron ejemplares de cada localidad para herborizar, los cuales fueron depositados en el herbario de FARMAYA S.A. y en el herbario BIGU. Una porción del material vegetal fue colocada en cámara húmeda utilizando bolsas con cierre hermético y

almacenada en refrigeración para su análisis, otra porción fue secada a la sombra para la realización de pruebas de identidad.

2. Determinación de características organolépticas y macromorfológicas

La determinación de las características macromorfológicas de la materia vegetal de estudio se realizó a simple vista y con la ayuda de microscopio estereoscopio; fueron revisados y anotados todos los caracteres que ayuden a la correcta identificación de la materia médica fresca y seca tales como: morfología, color, olor, dimensiones de las hojas, tipo de nervación y otras.

3. Determinación de características micromorfológicas e histológicas

Se realizaron cortes transversales finos de la muestra, empleando hojas de afeitar y planchas de poliestireno; los cortes fueron observados al microscopio con aumentos de 50X, 100X y 400X, después de ser coloreados con los reactivos específicos para identificar tejidos (safranina y Fast Green), almidones (lugol), alcaloides (Dragendorff), grasas y aceites (sudan III), mucílagos (azul de cresil), saponinas (ácido sulfúrico) y taninos (sulfato férrico).

a. Coloración con safranina o safranina Fast Green

- i) Se eligieron los cortes más delgados.
- ii) Se realizaron 5 lavados de 3 minutos cada uno con agua destilada.
- iii) Se agregaron gotas de solución de safranina al 1% o safranina Fast Green.
- iv) Se dejaron actuar durante 5 minutos.
- v) Se lavaron con agua destilada.
- vi) Se observaron para la identificación de tejidos (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

b. Almidón

- i) Se colocaron cortes en portaobjetos.
- ii) Se agregaron gotas de reactivo de lugol.

iii) Se observaron al microscopio, la presencia de una coloración azul o azul violácea en el citoplasma de las células se consideró positivo (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

c. Alcaloides

- i) Se colocaron cortes de material vegetal sobre portaobjetos.
- ii) Se agregaron gotas de reactivo de Dragendorff.
- iii) Se dejaron actuar durante unos minutos.
- iv) Se observaron al microscopio, la presencia de un precipitado rojo ladrillo se consideró positivo (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

d. Grasas y aceites

- i) Se colocaron en portaobjetos cortes delgados de la muestra.
- ii) Se adicionaron gotas de reactivo de sudan III.
- iii) Se dejaron actuar durante 10 minutos.
- iv) Se observaron al microscopio, la presencia de una coloración roja o rosada se consideró positivo (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

e. Mucílagos

- i) Se colocaron en portaobjetos cortes finos de la muestra.
- ii) Se agregaron gotas de azul de cresil al 1%.

Nota: La aparición de coloración azul Francia se consideró positivo (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

f. Saponinas

- i) Se colocaron cortes en portaobjetos
- ii) Se agregaron gotas de ácido sulfúrico.

Nota: La aparición de coloración amarilla, que a los 30 minutos cambió a rojo y finalmente a azul verdoso o lila se consideró positiva (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

g. Taninos

- i) Se colocaron cortes sobre portaobjetos.
- ii) Se agregaron gotas de sulfato férrico.
- iii) Se dejaron actuar por 2-3 minutos.
- iv) Se lavaron con agua destilada.

Nota: Los taninos presentaron una coloración azul- verdosa (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

4. Metodología de observación de epidermis

Fueron realizados cortes con una hoja de afeitar de aproximadamente 1 cm de ancho y se dejaron en un recipiente con cloro, posteriormente fueron calentados en baño de agua por 10 o 20 minutos o hasta que se tornaron transparentes. Se lavaron con agua destilada y les fue agregada safranina por 10 minutos. Las muestras fueron lavadas con agua destilada dos veces y se prosiguió a pasarlas por etanol al 30, 50, 70 % y etanol absoluto. Luego se agregó xilol, el cual aclaró la muestra y la terminó de deshidratar (Gattuso, 1999b).

5. Metodología de diafanización de Strittmater

A las hojas en estudio se les realizó la diafanización de Strittmater, en preparaciones fijas, lográndose muestras histológicas semitransparentes muy útiles para estudios de venación. El procedimiento utilizado fue:

- a. Se colocaron muestras en vasos de precipitar con alcohol al 96 %, y se llevaron a ebullición en baño María durante 10 minutos.
- b. Se transfirieron a una solución de partes iguales de alcohol al 96% e hidróxido de sodio al 5 % y se llevaron a ebullición en baño María durante 10 minutos.
- c. Se lavaron cuidadosamente con agua destilada tibia varias veces hasta que el agua quedó totalmente limpia.
- d. Se introdujeron las muestras con precaución en cajas de petri conteniendo hipoclorito de sodio al 50 %, y se dejaron reposar por aproximadamente 15 minutos hasta que las hojas quedaron blanco-transparentes.

- e. Se lavaron varias veces en agua destilada cambiándola cada 3 minutos hasta eliminar el hipoclorito.
- f. Se introdujeron en hidrato de cloral al 5 % durante 5 a 10 minutos como mínimo, para remover la opacidad.
- g. Se tiñeron con safranina en etanol al 80 % (5 g de safranina en 100 ml de etanol al 80 %) o safranina Fast Green durante 15-20 minutos; y se montaron con gelatina-glicerina (Gattuso, 1999b).

6. Determinación de índice de estomas

El índice de estomas es una constante dentro de ciertos límites, que permite la caracterización de hojas por comparación con testigos o con valores ya tabulados. Para su determinación se procedió a diafanizar un trozo de hojas de alrededor de 5 x 5 mm, el cual fue transferido a un portaobjetos cuidando que la epidermis inferior quedase orientada hacia arriba al ser montada con gelatina-glicerina.

Posteriormente se observó con un microscopio y se dibujó una cruz por cada célula epidérmica y un círculo por cada estoma y se calculó el resultado con la siguiente fórmula:

$$I = \frac{S \times 100}{E + S}$$

I = Índice de estomas

S = Número de estomas en una superficie determinada de la hoja

E = El número total de células epidérmicas en la misma área (incluyendo los tricomas que pudieron aparecer) (Gattuso, 1999b).

7. Pruebas de pureza

a. Cenizas totales

Al incinerar la materia vegetal se produjo una ceniza inorgánica. El porcentaje de ceniza producido es indicativo del cuidado tomado durante el procesamiento del material. El

contenido de cenizas proporcionó una idea sobre el contenido total de minerales en la muestra. El proceso se llevó a cabo de la siguiente forma:

- i) Se colocaron aproximadamente 1 g de material seco en estudio en diferentes crisoles de porcelana, previamente calcinados y a peso constante.
- ii) Se introdujeron los crisoles con las muestra en el interior de un horno a 550 °C hasta obtener cenizas blancas, gris claro o gris rojo.
- iii) Se dejaron enfriar los crisoles en el desecador.
- iv) Se pesaron rápidamente y se anotaron los resultados (3 repeticiones) (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

b. Humedad

La humedad hace referencia a la materia volátil que fue eliminada por calentamiento conduciendo a la pérdida de peso de la muestra. Esta materia puede estar constituida por agua, grasas, aceites, alcoholes, disolventes, materias aromáticas, componentes volátiles y productos de descomposición.

Si existe exceso de agua en la muestra puede producirse hidrólisis de sus constituyentes y se favorece el crecimiento de microorganismos.

En esta investigación se empleó el método de termogravimetría para la determinación de humedad, a través de la implementación de los siguientes pasos:

- i) Se seleccionó parte representativa del total de la muestra, homogenizada y mezclada.
- ii) Se encendió el aparato y seleccionó el programa de 15 minutos a 105 °C.
- iii) Se abrió la cámara y colocó el platillo
- iv) Se determinó la tara del platillo y se agregó la muestra.
- v) Se colocó en el platillo una capa fina homogénea de aproximadamente 1-2 g

- vi) Se cerró el aparato y se determinó el peso inicial.
- vii) Se inició el programa de secado y se esperó a leer el resultado.
- viii) Se realizó el procedimiento por triplicado (Gattuso, 1999b; Paredes, 2005).

c. Determinación de aceites esenciales

Los aceites esenciales son compuestos odoríferos o esencias de una planta, se ubican en diferentes partes de la misma; químicamente están formados por la mayoría de monoterpenos, sesquiterpenos y compuestos aromáticos.

Se obtienen del material fresco o seco por destilación por arrastre de vapor, expresión, enflorado o hidrodestilación utilizando un Neoclevenger o equipo similar mediante el siguiente proceso:

i) Preparación de la muestra:

- Se molieron 100 g de materia seca vegetal y se pesaron aproximadamente 25 g. del material molido.
- Se introdujeron 25 g de material molido en un balón de destilación de 1000 ml.
- Se agregaron 500 ml de agua destilada hasta cubrir los 25 g del material (LIPRONAT, 2005).

ii) Uso del equipo

- Se instaló el destilador de aceites esenciales.
- Se conectó el balón de destilación con el recipiente colector y la bomba que circula la solución de enfriamiento por el refrigerante.
- Se llenó con agua el tubo N hasta el nivel B del tubo graduado.
- Se agregó 2 ml de un disolvente orgánico (pentano) en el tubo K utilizando una pipeta Pasteur y se colocó el tapón al tubo hasta que empezó a destilar el aceite.

- Se destiló a temperatura constante durante aproximadamente 2 horas, manteniendo un flujo de destilación de 2-3 ml por minuto.
 - Se determinó el tiempo de destilación a partir del inicio de obtención del aceite.
 - Se midió la capa superior de aceite esencial recogido en el recipiente graduado
 - Se esperó 10 minutos después de terminado el calentamiento antes de coleccionar el aceite.
 - Se abrió la llave, se dejó caer el agua y descartó.
 - Se recibió la parte orgánica en un balón de 125 ml y se agregó al tubo K aproximadamente 1 ml del disolvente orgánico utilizado anteriormente, para lavar y arrastrar todo el aceite recuperado.
 - Se eliminó el disolvente orgánico por evaporación en campana de extracción de gases.
 - Se pesó el aceite obtenido, se vertió en un vial color ámbar y se almacenó a 4 °C
 - Se determinó el porcentaje de rendimiento a partir del peso del aceite entre el peso de la materia vegetal por cien (LIPRONAT, 2005).
- d. Caracterización de aceites esenciales mediante el método de cromatografía en capa fina

En la cromatografía en capa fina la separación de compuestos se hace sobre una capa fina de un material adecuado (adsorbente), la cual está adherida a una placa de vidrio u otro material de soporte (Aguilar, Torres, Valdés, Chuy, y Paniagua, 2005).

El disolvente utilizado para la separación se mueve junto con el compuesto a separar sobre esta capa fina y la separación de las sustancias se basa principalmente en sus características de polaridad. Entre los adsorbentes utilizados se encuentran óxidos hidratados y sales, como gel de sílice (silicagel) y el óxido de aluminio (alúmina) (Aguilar et al., 2005).

Bajo ciertas condiciones experimentales, el movimiento de una sustancia en particular es constante con respecto al movimiento del frente de un solvente determinado. Esta constante se llama valor R_f , y se define como el cociente obtenido de dividir la distancia recorrida por la muestra entre la distancia recorrida por el solvente. Para la realización de esta técnica fueron llevados a cabo los siguientes pasos:

- i) Se trazó una línea paralela a uno de los extremos de la cromatoplaque. Sobre ella se hicieron las marcas de las muestras, separadas 1.5 cm. e identificadas con números.
- ii) Se preparó la fase móvil de tolueno-acetato de etilo (93:7) y se dejó reposar en la cámara durante 30 minutos.
- iii) Se diluyó la solución de aceite esencial en tolueno (1:10), sin embargo, No se realizar dilución de los estándares.
- iv) Se aplicó en las primeras marcas las muestras procedentes de las tres localidades de colecta en las diferentes etapas fenológicas (total 9 muestras) seguidas de los estándares (limoneno, citral y 1,8-cineol). Se hicieron dos aplicaciones de cada una de las soluciones, utilizando para ello tubos capilares. Se dejó secar la primera aplicación antes de aplicar la segunda.
- v) Después de que las aplicaciones se secaron, se colocó la cromatoplaque en un recipiente que contenía una pequeña cantidad de eluente.
- vi) Se cerró el recipiente y se llevó a cabo la cromatografía hasta que el frente del eluente ascendió a una distancia aproximada de 10 cm.
- vii) Se removió la cromatoplaque del recipiente y se dejó secar a temperatura ambiente.
- viii) Se roció la placa con solución de vanillina-ácido sulfúrico. Se secó la cromatoplaque en estufa hasta la aparición de zonas azules, verdes, rojas y café

en visible. Se marcó con un lápiz la posición del frente del disolvente, antes que se evaporase.

- ix) Se midió la distancia en cm, desde el centro de la mancha hasta la marca inicial. Se calculó el valor de R_f para las muestras. Con base en los valores de R_f obtenidos, se compararon los controles con muestras analizadas (Aguilar et al., 2005; LIPRONAT, 2005).

F. Diseño de la Investigación

En la presente investigación fue realizado un muestreo por conveniencia, con el fin de obtener aproximadamente 1 kg de material vegetal fresco en diferente fase fenológica (desarrollo foliar, inicio de floración e inicio de fructificación), incluyendo hojas y tallos; de tres diferentes localidades, ubicadas en el departamento de Sacatepéquez (municipio San Bartolomé Milpas Altas, municipio Magdalena Milpas Altas y municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux), para un total de 9 muestras, 3 de cada localidad en las diferentes fases fenológicas.

El análisis de la materia vegetal fue llevado a cabo en el LIPRONAT y en el Laboratorio de Bioensayos del Departamento de Citohistología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala; y consistió en la descripción detallada de las características de identidad de *L. guatemalensis*; incluyendo caracteres organolépticos (olor, color y otras), macroscópicos (morfología) micromorfológicas (citohistológicas), histoquímicos y características de pureza (humedad, cenizas totales y determinación de aceites esenciales).

Las determinaciones organolépticas, macroscópicas, micromorfológicas e histoquímicas fueron realizadas en material vegetal fresco, en una única determinación durante la fase de desarrollo foliar, en cada localidad de colecta; realizándose en caso necesario repeticiones del procedimiento para evidenciar claramente las reacciones o características correspondientes a conveniencia del investigador.

En cuanto a los parámetros de calidad que describen la pureza de dicha planta se realizaron ensayos cuantitativos por conveniencia para determinar humedad y cenizas totales sin exceder 3 réplicas, debido a limitaciones en la capacidad de procesamiento del equipo analítico.

El porcentaje de rendimiento de aceites esenciales fue determinado para cada una de las tres localidades en estudio en las diferentes etapas fenológicas, a partir de material seco (con un tiempo de secado mayor o igual a 30 días) por medio del método de hidrodestilación utilizando un equipo de Neoclevenger con un mínimo de tres corridas; también se realizó caracterización de los aceites esenciales, mediante la técnica de cromatografía en capa fina empleando los estándares utilizados en el LIPRONAT (limoneno, citral y 1,8 cineol) como controles de comparación.

A partir de este análisis se busca obtener un rango que permita caracterizar estos parámetros para determinar la identidad de *L. guatemalensis*, y así poder diferenciarla de *L. nobilis*.

VIII. RESULTADOS

A. Recolección y herborización de ejemplares frescos

El material vegetal se obtuvo a través de la realización de viajes de campo a tres localidades distintas: San Bartolomé Milpas Altas, Sacatepéquez; municipio Magdalena Milpas Altas, Sacatepéquez y municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux (Anexo 3, 4 y 5).

Fueron realizadas tres colectas de aproximadamente 1 Kg. de partes aéreas de la planta, correspondientes a las diferentes fases fenológicas de *L. guatemalensis* (desarrollo foliar, inicio de floración e inicio de fructificación).

También fueron colectados ejemplares de cada localidad para herborizar, que fueron depositados en el herbario de FARMAYA S.A. y en el herbario BIGU, donde se encuentran registrados con los siguientes números de inventario: San Bartolomé Milpas Altas 1094 y 47545, Magdalena Milpas Altas 1093 y 47543; Cerro Alux 1092 y 47544 respectivamente (Anexo 6 y 7).

Fue recolectada una porción del material vegetal en cámara húmeda utilizando bolsas con cierre hermético y almacenada en refrigeración para su análisis, mientras que otra porción fue secada a la sombra para la realización de pruebas de identidad.

B. Características de los ejemplares a estudio

1. *L. guatemalensis* proveniente de San Bartolomé Milpas Altas

a. Descripción botánica diagnóstica:

Árbol silvestre, dioico, pequeño, de altura aproximada de 3 m con ramas finas de color café, tallo leñoso de color café oscuro con diámetro aproximado de 35 cm; edad estimada de 15 años, ubicado en una zona de cultivo, en una región montañosa (Fig. 1).

Las hojas son siempre verdes, macroscópicamente lustrosas y glabras bastante aromáticas con disposición alterna, elípticas-lanceoladas con ápice agudo y base

cuneiforme; de venación pinnada, con varios órdenes de ramificación más pequeños que forman un retículo.

De margen entero con longitud que varia entre 9.1 a 3.1 cm, con un promedio de 6.14 cm; el ancho varia entre 3.9 a 1.0 cm, con un promedio de 2.01 cm. El peciolo es elíptico-lanceolado con longitud que oscila entre 1.0 a 0.3 cm, con un promedio de 0.7 cm (Fig. 2-3).

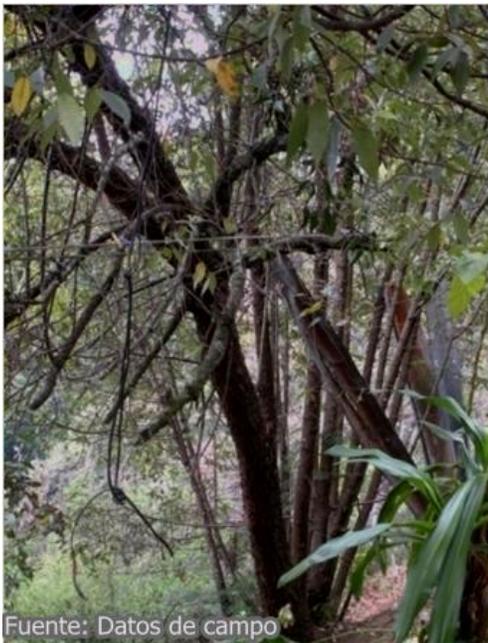


Fig. 1: Ejemplar de planta a estudio



Fig. 2: Material vegetal fresco

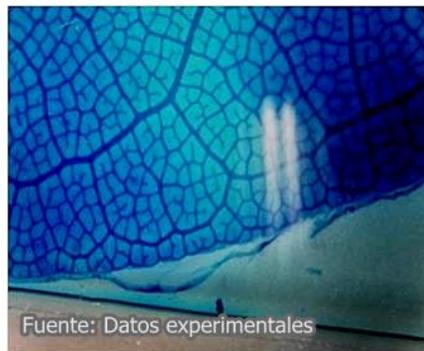


Fig. 3: Vascularización foliar. (50x)
Tinción: Azul de cresil al 1%

b. Descripción de droga seca

Las hojas desecadas no se fragmentan con facilidad y conservan las características antes descritas, con la salvedad de una disminución en la intensidad del color y lustrosidad de las mismas (Fig. 4-5).



Fig. 4: Droga seca



Fig. 5: Droga seca

c. Descripción micromorfológica

La epidermis estaba compuesta de células sinuosas de forma irregular, rodeadas de espacios conspicuos. La hoja en vista transversal fue dorsiventral e hipostomática, con presencia de estomas de tipo anomocítico (Fig. 6-7).

En epidermis adaxial se observó parénquima en empalizada con células alargadas distribuidas en el mesófilo. En epidermis abaxial se observó parénquima esponjoso de aspecto irregular con presencia de aerénquima. El esclerénquima fue visible en acúmulos dispersos en diferentes secciones de la hoja (Fig. 8-11).

En la nervadura central se observó colénquima angular en el mesófilo superior e inferior, así como en el segmento distal de la hoja. Los haces vasculares son colaterales abiertos, rodeados de una vaina esclerenquimática. También se evidenció presencia de fibras extra xilemáticas y haces vasculares transcurrentes rodeados de esclerénquima (Fig. 9-13).

La cutícula se observó moderadamente gruesa en epidermis adaxial y más delgada en epidermis abaxial. La pubescencia observada fue de tipo pilosa con presencia de regular cantidad de tricomas no glandulares aciculares en epidermis abaxial (Fig. 14-15).

En el corte transversal de tallo se observó que la estela es de tipo sifonostela, encontrándose una distribución de haces vasculares de tipo concéntrico, perifloemático o anficribal con presencia de xilema mesarco. El colénquima angular se encontró en posición subepidérmico distribuido en forma de cilindro continuo. El esclerénquima, constituido por células pétreas, se observó distribuido en secciones dispersas en la periferia (Fig. 16-19).

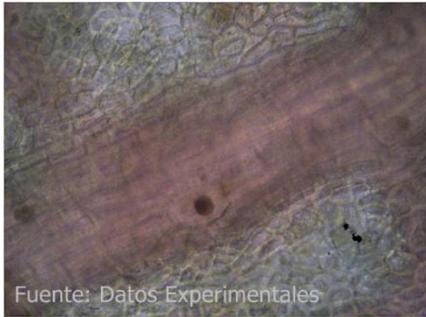


Fig. 6: Células de epidermis abaxial y nervadura central. (400x) Preparación en fresco

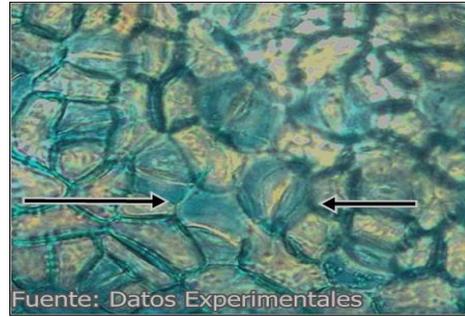


Fig. 7: Estomas anomocíticos en epidermis abaxial. (400x) Tinción: Azul de cresil al 1%

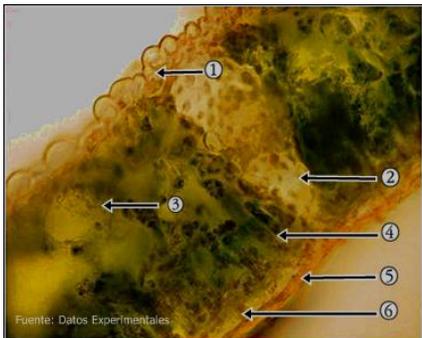


Fig. 8: (1) Epidermis abaxial (2) Haces vasculares trascurrentes con esclerenquima (3) Parénquima esponjoso (4) Parénquima en empalizada (5) Cutícula (6) Epidermis adaxial. (100x) Tinción: Sudán III

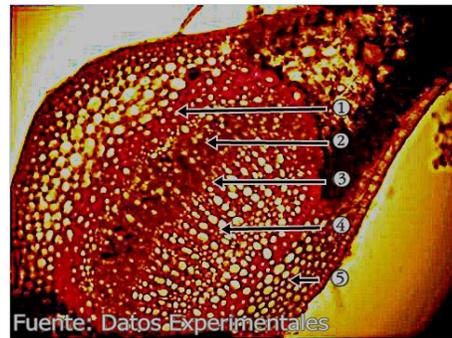


Fig. 9: (1) Esclerénquima (2) Floema (3) Zona de cambium vascular (4) Xilema (5) Colénquima angular. (100x) Tinción: Dragendorff



Fig. 10: (1) Colénquima (2) Esclerénquima (3) Floema (4) Xilema. (100x) Tinción: Sulfato férrico



Fig. 11: (1) Esclerénquima (2) Colénquima angular (400x) Tinción: Lugol

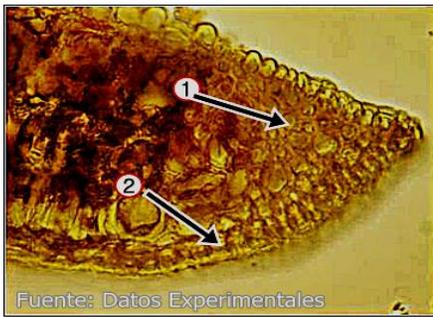


Fig. 12: (1) Colénquima y (2) Células epidérmicas en segmento distal de la hoja. (400x) Tinción: Sudán III

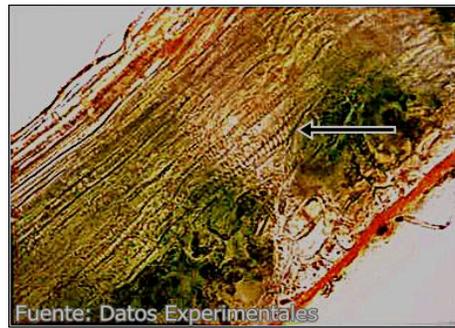


Fig. 13: Fibras extra xilemáticas (400x) Tinción: Sudán III



Fig. 14: Tricoma no glandular aciculares en epidermis abaxial (400x) Tinción: Fast Green

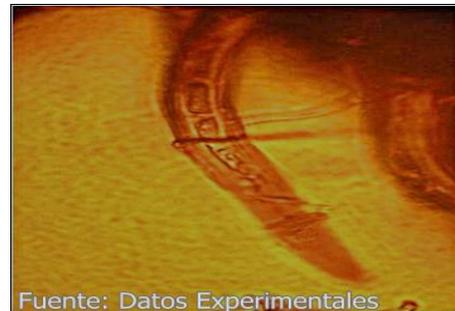


Fig. 15: Tricoma acicular en epidermis abaxial. (400x) Tinción: Dragendorff

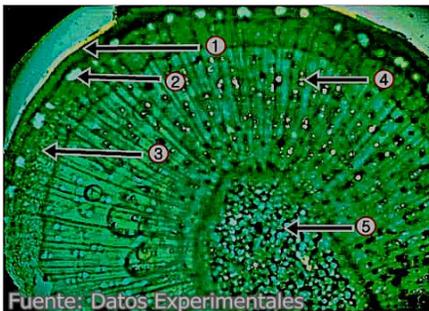


Fig. 16: (1) Corteza (2) Esclerénquima (3) Floema (4) Xilema (5) Parénquima medular (400x) Tinción: Fast Green



Fig. 17: (1) Corteza (2) Floema (3) Esclerénquima (4) Xilema. (100x) Tinción: Azul de cresil al 1%

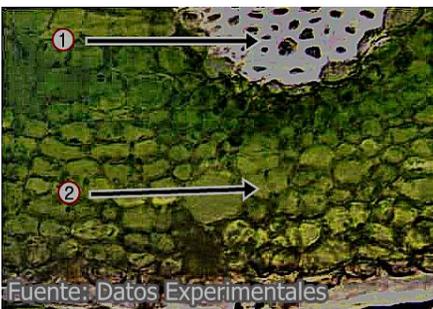


Fig. 18: (1) Esclerénquima y (2) Colénquima angular en corteza (400x) Tinción: Sulfato férrico



Fig. 19: Metaxilema y haces del xilema (400x) Tinción: Fast Green

d. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje permitió evidenciar la presencia de alcaloides en poca cantidad en la nervadura central, mientras que en el parénquima medular se presentan en mayor cantidad. Los almidones están distribuidos tanto en el colénquima de la nervadura central y en el parénquima en empalizada y parénquima esponjoso; mientras que en el tallo se presentan en el parénquima medular y en los haces del xilema (Fig.20-21).

Los depósitos de grasas y aceites son evidentes en la nervadura central, peridermis y haces del xilema. Los mucílagos se encontraron distribuidos en los diferentes tejidos de la hoja y en los haces vasculares del tallo; las saponinas se evidenciaron en abundancia en la hoja mientras que en el tallo se distribuyen en poca cantidad en el peridermis y en los haces cercanos al parénquima medular. Los taninos se encuentran distribuidos cerca de las fibras extra xilemáticas de la nervadura central y en los haces vasculares del tallo (Fig. 22-25).

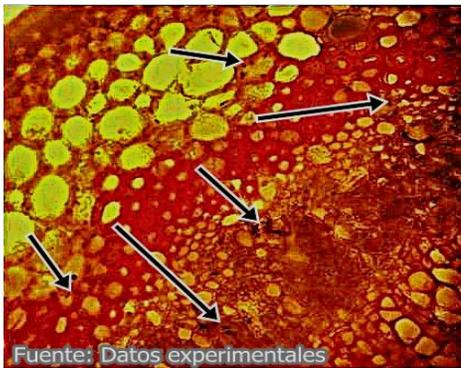


Fig. 20a: Alcaloides positivos en nervadura central. (400x)
Tinción: Dragendorff

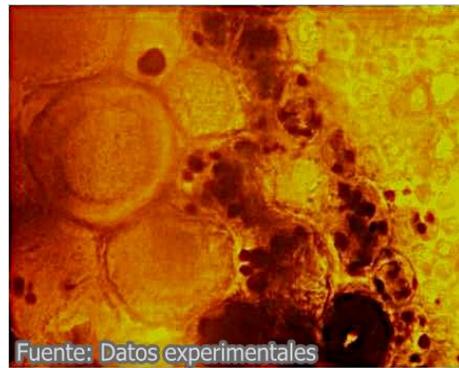


Fig. 20b: Alcaloides positivos en parénquima medular. (400x)
Tinción: Dragendorff

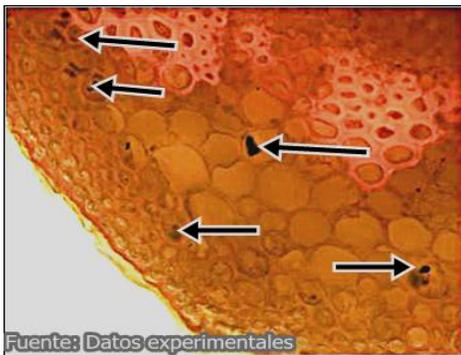


Fig. 21a: Almidón positivo en nervadura central. (400x)
Tinción: Lugol

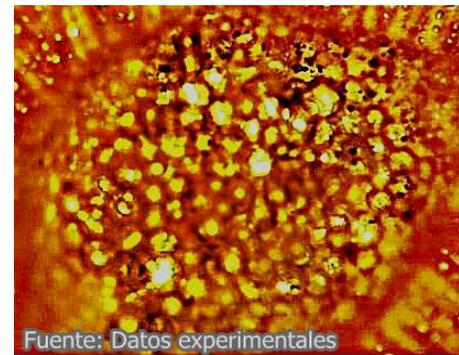


Fig. 21b: Almidón positivo en parénquima medular. (400x)
Tinción: Lugol

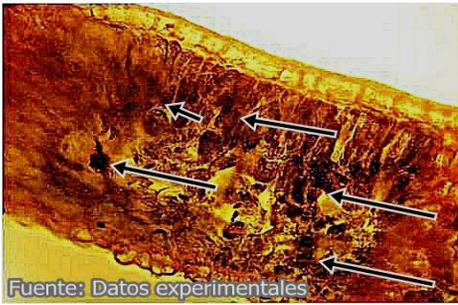


Fig. 21c: Almidón positivo en parénquima en empalizada y parénquima esponjoso. (400x) Tinción: Lugol

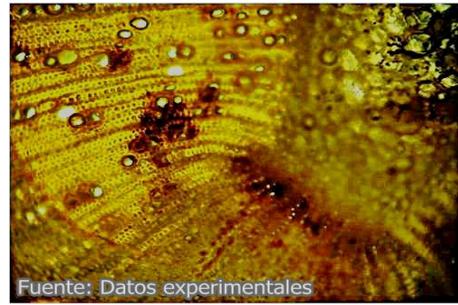


Fig. 21d: Almidón positivo en haces vasculares. (100x) Tinción: Lugol



Fig. 22a: Grasas y aceites positivos en nervadura central. (400x) Tinción: Sudán III

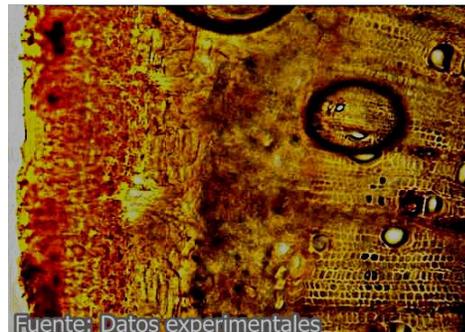


Fig. 22b: Grasas y aceites positivos en peridermis de tallo. (400x) Tinción: Sudán III

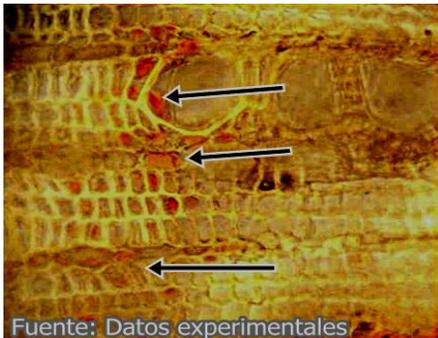


Fig. 22c: Grasas y aceites positivo en haces vasculares. (400x) Tinción: Sudán III

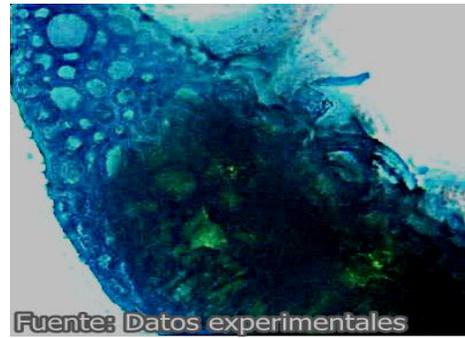


Fig. 23a: Mucílagos positivo en hoja. (100x) Tinción: Azul de cresil al 1%

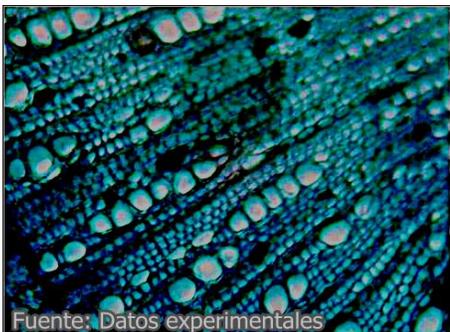


Fig. 23b: Mucílagos positivo en haces vasculares. (400x) Tinción: Azul de cresil al 1%

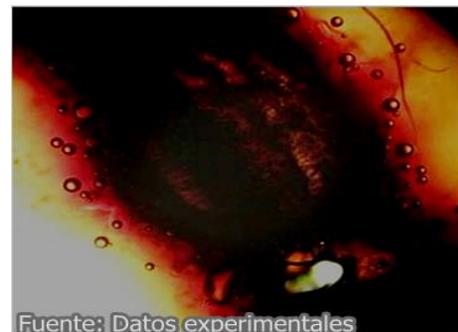


Fig. 24a: Saponinas positivo en hoja. (100x) Tinción: Ácido sulfúrico

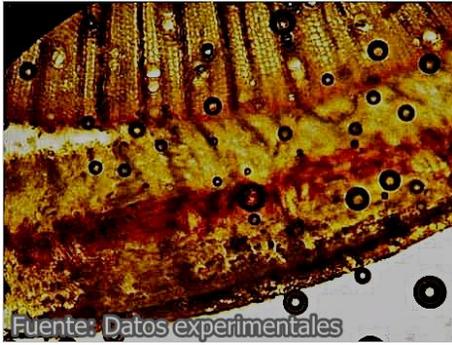


Fig. 24b: Saponinas positivo en tallo. (100x) Tinción: Ácido sulfúrico



Fig. 24c: Saponinas positivo en haces vasculares. (100x) Tinción: Ácido sulfúrico

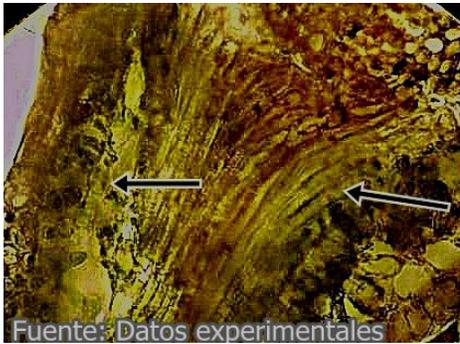


Fig. 25a: Taninos positivos en hoja. (400x) Tinción: Sulfato férrico

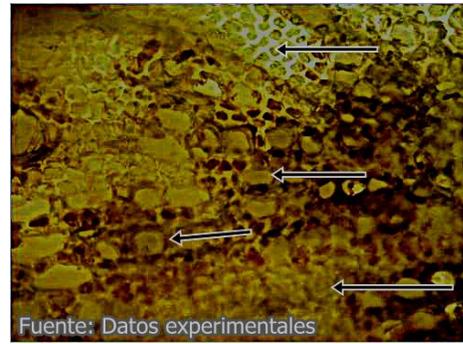


Fig. 25b: Taninos positivos en haces vasculares. (400x) Tinción: Sulfato férrico

2. *L. guatemalensis* proveniente de Magdalena Milpas Altas

a. Descripción botánica diagnóstica:

Árbol silvestre, dioico, de altura aproximada de 5 m con ramas fina de color café, tallo leñoso de color café oscuro con diámetro aproximado de 45 cm; edad estimada de 20 años, ubicado en una zona de cultivo de maíz y frijol en una región boscosa (Fig. 26).

Las hojas son siempre verdes, lustrosas, glabras y muy aromáticas con disposición alterna, elípticas-lanceoladas con ápice agudo y base cuneiforme; de venación pinnada-reticulada, con margen entero con longitud que varia entre 8.5 a 2.5 cm, con un promedio de 5.83 cm; el ancho varia entre 2.7 a 1.0 cm, con un promedio de 1.90 cm. El peciolo es elíptico con longitud que oscila entre 0.8 a 0.4 cm, con un promedio de 0.56 cm (Fig. 27-28).



Fig. 26: Ejemplar de planta a estudio

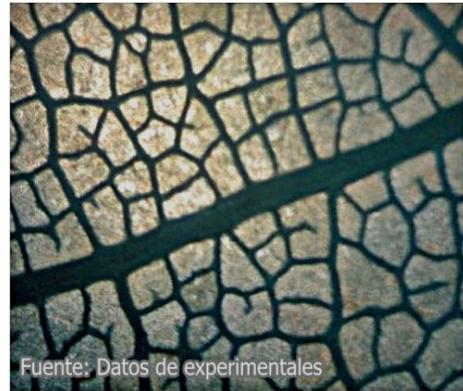


Fig. 27: Vascularización foliar pinnada-reticulada.
(50x) Muestra en fresco

b. Descripción de droga seca

La droga seca no se fragmenta con facilidad y conserva las características de la muestra fresca, sin embargo, presentó disminución en la intensidad del color y lustrosidad de las mismas (Fig. 28-29).



Fig. 28: Droga seca



Fig. 29: Droga seca

c. Descripción micromorfológica

La epidermis de la hoja es de tipo hipostomática, con estomas anomocíticos y pubescencia pilosa, presentó tricomas aciculares cortos visibles únicamente en epidermis abaxial. Ambas epidermis (adaxial y abaxial) presentaron células sinuosas de forma

irregular con espacios conspicuos. La cutícula en epidermis adaxial se observó moderadamente más gruesa que en epidermis abaxial (Fig. 30-32).

En vista transversal la hoja fue dorsiventral. El parénquima en empalizada, ubicado en la superficie adaxial, estaba compuesto de células alargadas poco empacadas; el parénquima esponjoso, ubicado en la superficie abaxial, presentó células de aspecto irregular con presencia de aerénquima. El esclerénquima fue visible en acúmulos dispersos en diferentes secciones de la hoja (Fig. 33-34).

En la nervadura central se observó colénquima angular en el mesófilo superior e inferior. Los haces vasculares observados fueron tipo colateral abierto, rodeados de una vaina esclerenquimática. También fueron observables haces vasculares transcurrentes rodeados de esclerénquima (Fig. 35-36).

La estela del tallo fue de tipo sifonostela, presentó una distribución de haces vasculares de tipo concéntrico, perifloemático o anficribal con presencia de xilema mesarco. El colénquima angular se ubicó en posición subepidérmico, distribuido en forma de cilindro continuo. El esclerénquima se observó distribuido en secciones dispersas en la periferia (Fig. 37-39).



Fig. 30: Estomas anomocíticos. (400x) Tinción: Azul de cresil al 1%



Fig. 31: Tricomas aciculares en epidermis abaxial (400x) Tinción: Sulfato Férrico

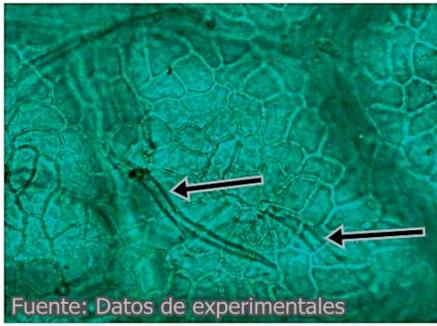


Fig. 32: Tricoma acicular en epidermis abaxial (400x) Tinción: Fast Green

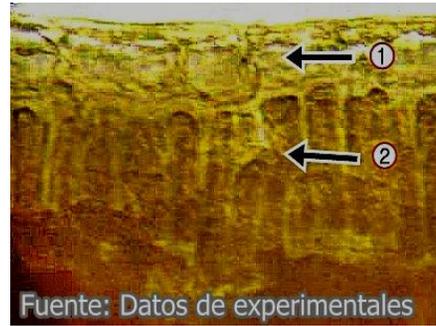


Fig. 33: (1) Células epidérmicas (2) Parénquima en empalizada. (400x) Tinción: Sulfato Férrico

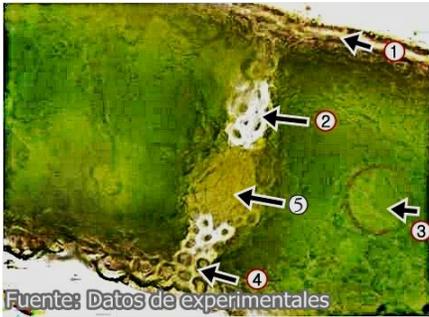


Fig. 34: (1) Cutícula (2) Esclerenquima (3) Aerénquima (4) Colénquima (5) Haces vasculares transcurrentes con esclerenquima . (100x) Tinción: Fast Green



Fig. 35: (1) Cutícula (2) Colénquima (3) Esclerenquima (4) Xilema (5) Floema (6) Tricomas. (100x) Tinción: Fast Green



Fig. 36: (1) Colénquima angular en nervadura central (2) Esclerenquima. (400x) Tinción: Sulfato Férrico



Fig. 37: (1) Cutícula (2) Esclerenquima (3) Floema (4) Xilema. (100x) Tinción: Fast Green

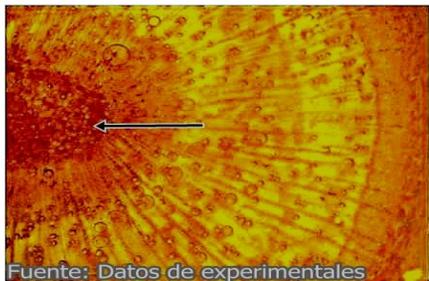


Fig. 38: Parénquima medular. (100x) Preparación en fresco



Fig. 39: Haces de xilema en tallo (400x) Tinción: Dragendorff

d. Tamizaje fitoquímico

El tamizaje evidenció la presencia de alcaloides en poca cantidad en la nervadura central y en los haces vasculares. Los almidones están distribuidos en el parénquima en empalizada y parénquima esponjoso de la hoja y en el parénquima medular del tallo (Fig. 40-41).

Las grasas y aceites son evidentes en diferentes tejidos de la hoja, especialmente en la nervadura central, haces extra xilemáticos, haces vasculares del tallo y cutícula. Los mucílagos fueron encontrados en los diferentes tejidos de la hoja y en los haces vasculares del tallo, sin embargo en la corteza y peridermis del tallo presentaron reacción débilmente positiva (Fig. 42-43).

Las saponinas se evidenciaron en abundancia en la hoja mientras que en el tallo se distribuyen en cantidad moderada en los haces cercanos al parénquima medular. Los taninos presentan poca presencia en el parénquima esponjoso, en el parénquima en empalizada de la hoja y en el parénquima medular del tallo (Fig. 44-45).

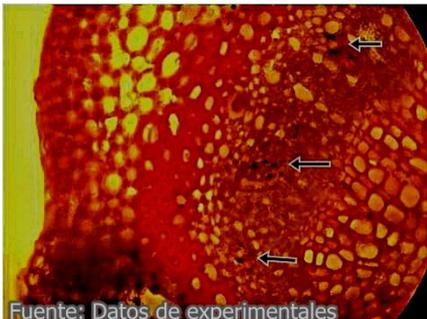


Fig. 40a: Alcaloides positivo en nervadura central. (400x) Tinción: Dragendorff



Fig. 40b: Alcaloides positivo en haces vasculares. (100x) Tinción: Dragendorff



Fig. 41a: Almidones positivo en hoja. (400x) Tinción: Lugol



Fig. 41b: Almidón positivo en parénquima medular. (100x) Tinción Lugol



Fig. 42a: Grasas y aceites positivo en hoja. (400x)
Tinción: Sudán III

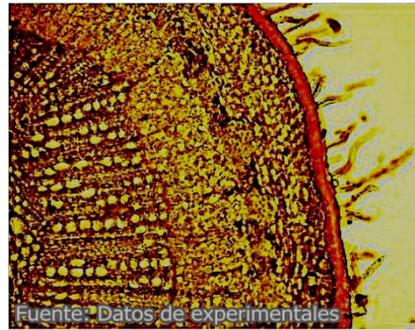


Fig. 42b: Grasas y aceites positivo en tallo. (100x)
Tinción: Sudan III

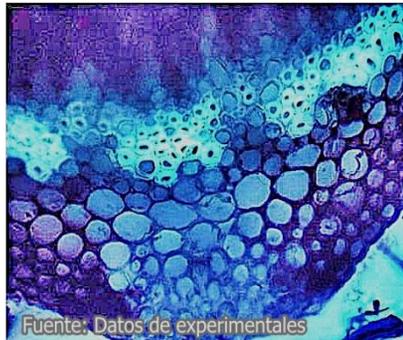


Fig. 43a: Mucílagos positivo en nervadura central.
(400x) Tinción: Azul de cresil al 1%

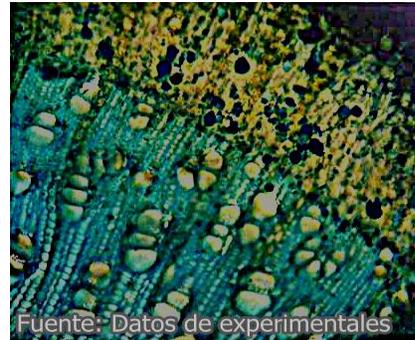


Fig. 43b: Mucílagos positivo en tallo. (400x) Tinción:
Azul de cresil al 1%



Fig. 44a: Saponinas positivo en hoja. (100x)
Tinción: Ácido sulfúrico

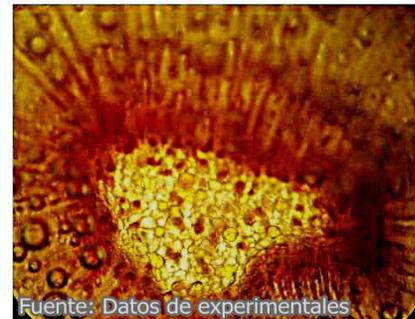


Fig. 44b: Saponinas positivo en tallo. (100x) Tinción:
Ácido sulfúrico

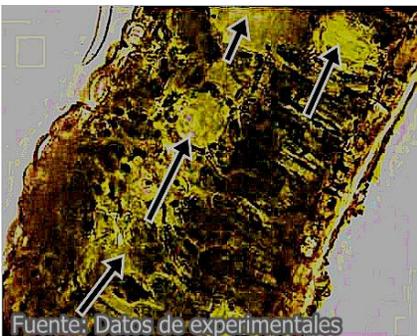


Fig. 45a: Taninos positivo en hoja. (100x) Sulfato
férico



Fig. 45b: Taninos positivo en tallo. (100x) Tinción:
Sulfato férico

3. *L. guatemalensis* proveniente de Cerro Alux

a. Descripción botánica diagnóstica:

Árbol silvestre, dioico, de altura aproximada de 5 m con ramas fina de color café, tallo leñoso de color café oscuro con diámetro aproximado de 50 cm; edad estimada de 25 años, ubicado en una zona montañosa rodeada de diversos árboles frutales y plantas ornamentales (Fig. 46).

Las hojas son siempre verdes, lustrosas, glabras, muy aromáticas, con disposición alterna, elípticas con ápice agudo y base cuneiforme; de venación pinnada-reticulada y margen entero; de longitud que varía entre 9.8 a 3.5 cm, con promedio de 6.89 cm; el ancho varía entre 3.7 a 1.5 cm, promedio de 2.52 cm. El peciolo es elíptico con longitud que oscila entre 1.0 a 0.4 cm, con promedio de 0.61 cm (Fig. 47-48).

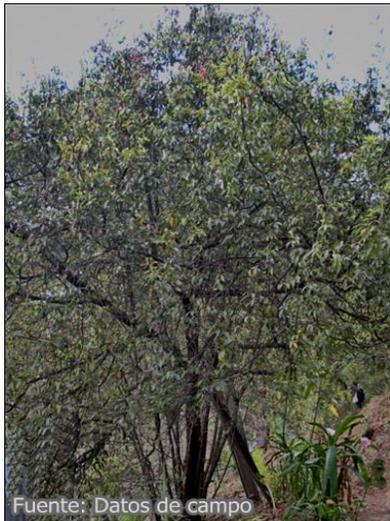


Fig. 46: Ejemplar de planta a estudio



Fig. 47: Material vegetal fresco.



Fig. 48: Vascularización foliar. (50x) Muestra en fresco

b. Descripción de droga seca

La droga seca estaba compuesta de hojas no fragmentadas que se diferencian de la materia vegetal fresca únicamente en la disminución de intensidad de color y lustrosidad de las mismas (Fig. 49).



Fig. 49: Droga seca

c. Descripción micromorfológica

La hoja es de tipo hipostomática y dorsiventral; los estomas en la epidermis abaxial fueron anomocíticos, mientras que la pubescencia de tipo pilosa evidenció presencia de tricomas pluricelulares cortos y aciculares de diferente longitud (Fig. 50-51).

Tanto la epidermis adaxial como abaxial evidenciaron presencia de células de forma irregular con espacios intercelulares conspicuos. La cutícula en epidermis adaxial se observó moderadamente más gruesa que en epidermis abaxial (Fig. 51-53).

En la nervadura central se observó colénquima angular en mesodermis adaxial y abaxial. El parénquima en empalizada, que estaba ubicado en la superficie adaxial, presentó células alargadas poco empacadas; el parénquima esponjoso, ubicado en superficie abaxial, evidenció células de aspecto irregular con presencia de aerénquima. (Fig. 52-54).

El esclerénquima fue visible en acúmulos dispersos en diferentes secciones de la hoja. Los haces vasculares observados fueron de tipo colateral abierto, rodeados de una vaina esclerenquimática (Fig. 53-55).

El tallo presenta una estela de tipo sifonostela, con distribución de haces vasculares de tipo concéntrico, perifloemático o anficribal con presencia de xilema mesarco. La corteza presento colénquima angular, distribuido en forma de cilindro continuo. El esclerénquima se observó distribuido en secciones dispersas en la periferia (Fig. 56-57).



Fig. 50: Estomas anomocíticos (400x) Tinción: Azul de cresil al 1%

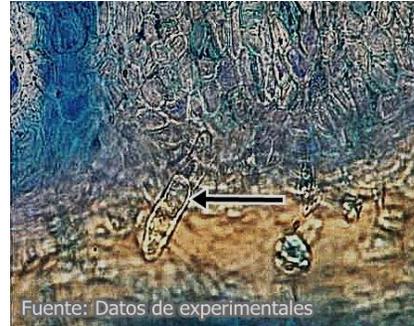


Fig. 51: Tricoma pluricelular corto (400x) Tinción: Azul de cresil al 1%



Fig. 52: (1) Células de epidermis adaxial (2) Tricoma acicular (3) Células de epidermis abaxial. (400x) Tinción: Fast Green

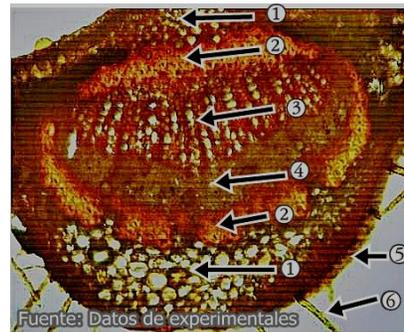


Fig. 53: (1) Colénquima angular (2) Vaina esclerenquimática (3) Xilema (4) Floema (5) Cutícula (6) Tricoma acicular. (100x) Tinción: Dragendorff



Fig. 54: Colénquima angular y Esclerénquima en epidermis adaxial de nervadura central. (400x) Tinción: Fast Green



Fig. 55: Esclerénquima y Xilema en nervadura central. (400x) Tinción: Fast Green

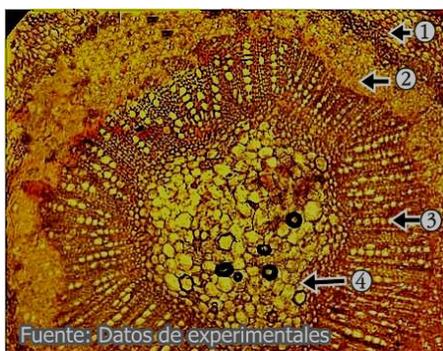


Fig. 56: (1) Colénquima en corteza (2) Floema (3) Xilema (4) Parénquima medular. (50x) Tinción: Sudán III



Fig. 57: Metaxilema (400x). Tinción: Fast Green

d. Tamizaje fitoquímico

Los alcaloides se encontraron en poca cantidad en la nervadura central y en los haces vasculares. Los almidones están distribuidos en los diferentes tejidos de la hoja y se encontraron abundantemente en el parénquima medular del tallo (Fig. 58-59).

Se observaron abundantes depósitos de grasas y aceites en los diferentes tejidos de la hoja y tallo. Los mucílagos fueron encontrados abundantemente en los diferentes tejidos de la hoja y en regular cantidad en el tallo (Fig. 60-61).

Las saponinas se evidenciaron en abundancia en la hoja y en regular cantidad en los haces cercanos al parénquima medular del tallo. Los taninos mostraron poca presencia en los tejidos de la hoja, mientras que en la peridermis y corteza del tallo se observaron abundantemente (Fig. 62-63).

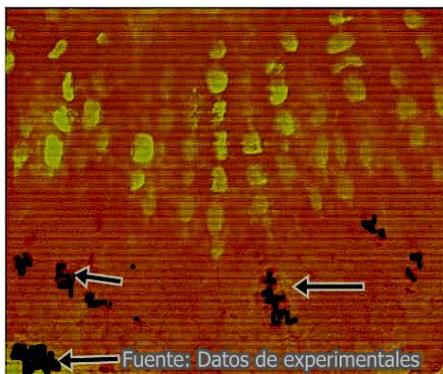


Fig. 58a: Alcaloides positivo en hoja. (400x) Tinción: Dragendorff

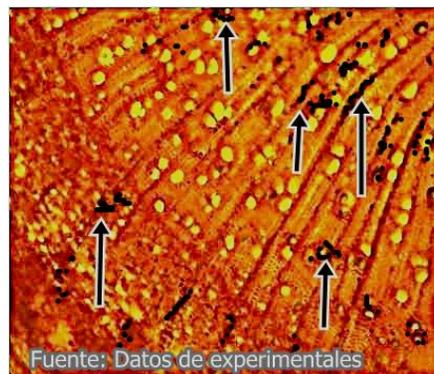


Fig. 58b: Alcaloides positivo en tallo. (100x) Tinción: Dragendorff



Fig. 59a: Almidón positivo en hoja. (400x)
Tinción: Lugol

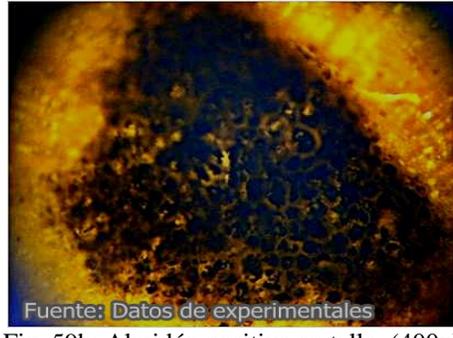


Fig. 59b: Almidón positivo en tallo. (400x)
Tinción Lugol



Fig. 60a: Grasas y aceites positivo en nervadura central. (400x) Tinción: Sudan III

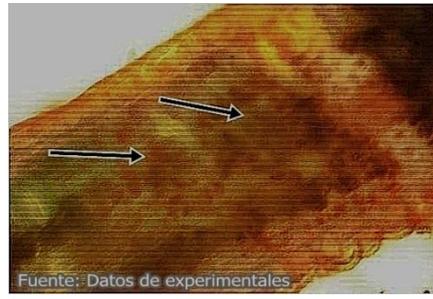


Fig. 60b: Grasas y aceites positivo en hoja. (400x)
Tinción: Sudan III

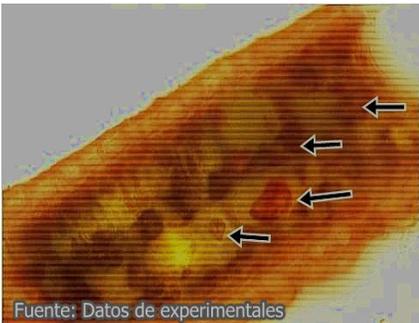


Fig. 60c: Grasas y aceites positivo en hoja. (400x)
Tinción: Sudan III

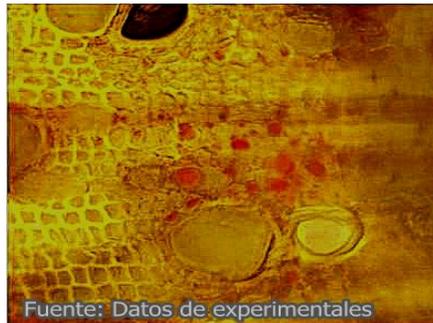


Fig. 60d: Grasas y aceites positivo en tallo. (400x)
Tinción: Sudán III



Fig. 61a: Mucílagos positivo en hoja. (400x)
Tinción: Azul de cresil al 1%

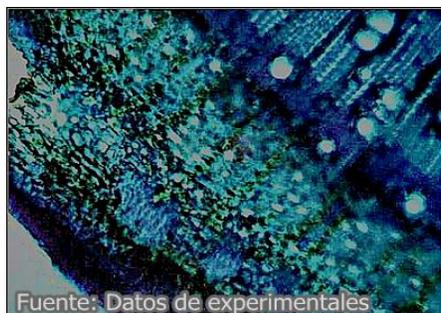


Fig. 61b: Mucílagos positivo en tallo. (400x)
Tinción: Azul de cresil al 1%

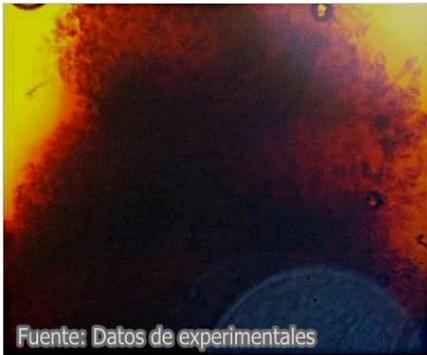


Fig. 62a: Saponinas positivo en hoja. (100x)
Tinción: Ácido sulfúrico



Fig. 62b: Saponinas positivo en tallo. (100x)
Tinción: Ácido sulfúrico

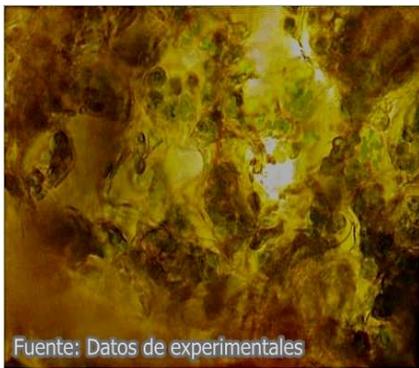


Fig. 63a: Taninos positivo en hoja. (400x) Tinción:
Sulfato férrico



Fig. 63b: Taninos positivo en tallo. (100x)
Tinción: Sulfato férrico

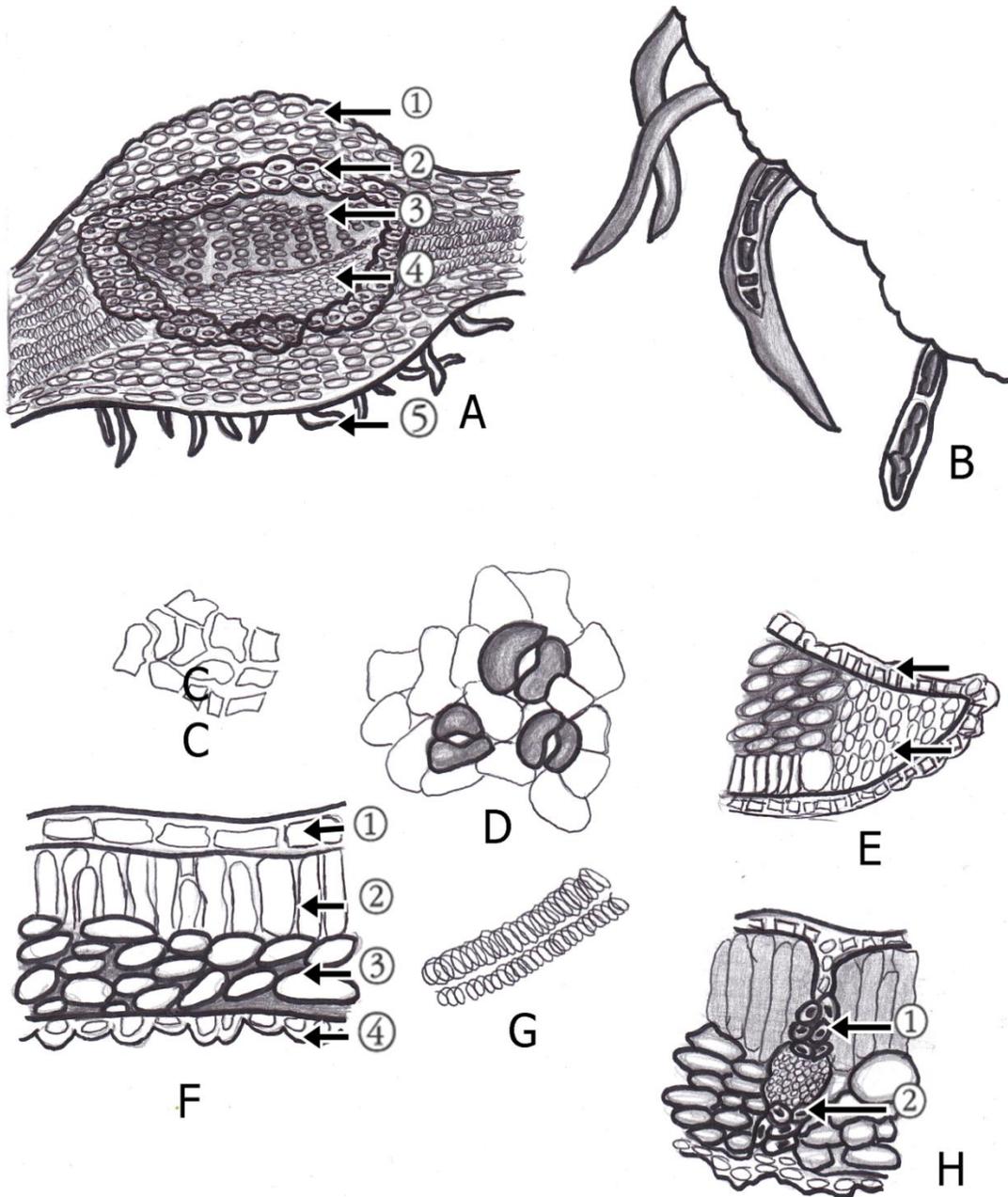
Tabla 1: Índice de estomas de hojas de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Índice de estomas
San Bartolomé Milpas Altas	22
Cerro Alux	24
Magdalena Milpas Altas	23

(Fuente: Datos experimentales)

C. Cartilla micrográfica de la hoja de *L. guatemalensis*

Se presentan las figuras que resumen los caracteres distintivos de la droga cruda.



CARTILLA No. 1: A. (1) Colénquima angular (2) Vaina esclerenquimática (3) Xilema (4) Floema (5) Tricomas. B. Tricomas no glandulares aciculares. C. Vista longitudinal de células epidérmicas. D. Estomas anomocíticos. E. (1) Células epidérmicas (2) Colénquima angular. F. (1) Células epidérmicas de superficie adaxial (2) Parénquima en empalizada. (3) Parénquima esponjoso (4) Células epidérmicas de superficie abaxial. G. Haces del xilema. H. (1) Esclerenquima (2) Haces vasculares transcurrentes rodeados de esclerenquima

D. Parámetros de calidad del material botánico de estudio

Para la determinación de los parámetros de calidad (humedad, cenizas y aceites esenciales), las muestras de estudio fueron secadas a la sombra a temperatura ambiente, por un tiempo mayor o igual a 30 días.

La determinación de humedad fue realizada mediante el método de termogravimetría mientras que las cenizas totales fueron analizadas a través de incineración de 1 g de muestra en horno, en número de 3 repeticiones. Los aceites esenciales fueron obtenidos por el método de hidrodestilación a escala de laboratorio utilizando Neoclevenger, mediante 3 repeticiones para cada fase fenológica de las diferentes localidades de estudio.

Los rendimientos de aceite esencial de hojas fueron expresados como % p/p (gramo de aceite esencial por gramo de hojas secas). La composición química de los aceites esenciales fue determinada por cromatografía en capa fina.

Tabla 2: Porcentaje de humedad de hojas de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Fase fenológica	No. repetición			Porcentaje promedio de humedad	DS
		R ₁ (%)	R ₂ (%)	R ₃ (%)		
San Bartolomé	Desarrollo foliar	9.4	9.5	9.6	9.5	± 0.07
Milpas Altas	Inicio de Floración	10.6	10.3	10.4	10.4	± 0.15
	Inicio de Fructificación	11.8	10.6	11.8	11.4	± 0.71
Cerro Alux	Desarrollo foliar	10.2	10.5	10.6	10.4	± 0.23
	Inicio de Floración	10.6	10.3	10.7	10.5	± 0.25
	Inicio de Fructificación	11.6	11.7	10.9	11.4	± 0.45
Magdalena	Desarrollo foliar	11.4	10.8	10.7	10.9	± 0.39
Milpas Altas	Inicio de Floración	9.3	9.9	9.9	9.7	± 0.33
	Inicio de Fructificación	11.2	10.9	10.1	10.7	± 0.58

(Fuente: Datos experimentales)

R1= Repetición 1, R2= Repetición 2, R3= Repetición 3

Tabla 3: Porcentaje de cenizas totales de hojas de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Fase fenológica	No de repetición	Peso muestra (g)	Cenizas obtenidas (g)	% de cenizas	Porcentaje Promedio de cenizas	DS
San Bartolomé Milpas Altas	Desarrollo foliar	R ₁	1.1818	0.0608	5.1	5.2	± 0.07
		R ₂	1.0892	0.0571	5.2		
		R ₃	1.0767	0.0569	5.2		
	Inicio de Floración	R ₁	1.1040	0.0538	4.8	4.7	± 0.13
		R ₂	1.0983	0.0531	4.8		
		R ₃	1.0477	0.0484	4.6		
	Inicio de Fructificación	R ₁	1.0357	0.0406	3.9	3.9	± 0.11
		R ₂	1.0060	0.0395	3.9		
		R ₃	1.1112	0.0458	4.1		
Cerro Alux	Desarrollo foliar	R ₁	1.0759	0.0584	5.4	5.1	± 0.25
		R ₂	1.0558	0.0537	5.0		
		R ₃	1.0562	0.0522	4.9		
	Inicio de Floración	R ₁	1.0755	0.0566	5.2	5.1	± 0.12
		R ₂	1.0963	0.0559	5.1		
		R ₃	1.0162	0.0510	5.0		
	Inicio de Fructificación	R ₁	1.0283	0.0449	4.3	4.2	± 0.38
		R ₂	1.1346	0.0439	3.8		
		R ₃	1.0619	0.0491	4.6		
Magdalena Milpas Altas	Desarrollo foliar	R ₁	1.0420	0.0452	4.3	4.3	± 0.10
		R ₂	1.0750	0.0485	4.5		
		R ₃	1.0023	0.0434	4.3		
	Inicio de Floración	R ₁	1.0255	0.0554	5.4	4.7	± 0.55
		R ₂	1.0608	0.0478	4.5		
		R ₃	1.0870	0.0479	4.4		
	Inicio de Fructificación	R ₁	1.1796	0.0493	4.1	4.3	± 0.32
		R ₂	1.0478	0.0498	4.7		
		R ₃	1.1658	0.0491	4.2		

(Fuente: Datos experimentales)

R1= Repetición 1, R2= Repetición 2, R3= Repetición 3

Tabla 4: Porcentaje de rendimiento de aceites esenciales de hojas de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Fase fenológica	No de repetición	Peso muestra (g)	Peso de aceite esencial (g)	% de aceite esencial	Porcentaje Promedio de aceites esenciales	DS
San Bartolomé Milpas Altas	Desarrollo foliar	R ₁	20.0	0.1103	0.5	0.5	± 0.01
		R ₂	20.0	0.1104	0.5		
		R ₃	20.0	0.1074	0.5		
	Inicio de Floración	R ₁	25.0	0.2506	1.0	1.2	± 0.25
		R ₂	25.0	0.3686	1.4		
		R ₃	24.4	0.3426	1.4		
	Inicio de Fructificación	R ₁	25.2	0.2788	1.1	1.3	± 0.20
		R ₂	25.2	0.3799	1.5		
		R ₃	25.0	0.3211	1.2		
Cerro Alux	Desarrollo foliar	R ₁	25.8	0.2919	1.1	0.9	± 0.16
		R ₂	25.0	0.2514	1.0		
		R ₃	20.0	0.1623	0.8		
	Inicio de Floración	R ₁	25.4	0.2302	0.9	1.0	± 0.12
		R ₂	25.1	0.2649	1.0		
		R ₃	25.0	0.2866	1.1		
	Inicio de Fructificación	R ₁	25.7	0.3765	1.4	1.8	± 0.29
		R ₂	25.9	0.5117	1.9		
		R ₃	25.0	0.4871	1.9		
Magdalena Milpas Altas	Desarrollo foliar	R ₁	25.0	0.1626	0.6	0.7	± 0.08
		R ₂	25.0	0.2027	0.8		
		R ₃	25.1	0.1930	0.7		
	Inicio de Floración	R ₁	25.4	0.2335	0.9	1.2	± 0.32
		R ₂	25.0	0.3892	1.5		
		R ₃	25.0	0.3432	1.3		
	Inicio de Fructificación	R ₁	22.5	0.1547	0.6	0.8	± 0.12
		R ₂	25.1	0.2075	0.8		
		R ₃	25.6	0.2379	0.9		

(Fuente: Datos experimentales)

R1= Repetición 1, R2= Repetición 2, R3= Repetición 3

Tabla 5: Cromatografía en capa fina de aceites esenciales de hoja de *Litsea guatemalensis*

Localidad muestreada	Fase fenológica	Valores de Rf	Color de banda	Estándar con el que coincide
San Bartolomé Milpas Altas	Desarrollo foliar	No se observó ninguna banda		
	Inicio de Floración	0.05	Azul-Violeta	Limoneno
		0.23	Azul-Violeta	-----
		0.25	Azul-Violeta	Limoneno
		0.33	Violeta	-----
		0.37	Violeta	Limoneno
		0.42	Violeta	-----
		0.51	Violeta	1,8 cineol
Inicio de Fructificación	0.17	Verde*	-----	
Cerro Alux	Desarrollo foliar	0.07	Azul-Violeta	-----
		0.20	Azul-Violeta	Limoneno
		0.30	Violeta	Limoneno
		0.37	Violeta	Limoneno
		0.43	Violeta	Limoneno
		0.54	Violeta	Limoneno
		0.80	Violeta	Limoneno
	Inicio de Floración	0.36	Violeta	Limoneno
		0.43	Violeta	Limoneno
	Inicio de Fructificación	0.05	Azul-Violeta	Limoneno
		0.25	Violeta	Limoneno
		0.30	Violeta	Limoneno
		0.36	Violeta	Limoneno
		0.43	Violeta	Limoneno
		0.48	Azul -Violeta	-----
		0.51	Azul-Violeta	1,8 cineol
		0.77	Violeta	Limoneno
Magdalena Milpas Altas	Desarrollo foliar	0.07	Verde*	-----
		0.20	Violeta	Limoneno
		0.30	Violeta	Limoneno
		0.36	Violeta	Limoneno
		0.43	Violeta	Limoneno
		0.54	Violeta	Limoneno
		0.77	Violeta	Limoneno

	Inicio de Floración	0.48	Verde*	-----
	Inicio de Fructificación	0.05	Azul-Violeta	Limoneno
		0.29	Violeta	-----
		0.36	Violeta	Limoneno
		0.43	Violeta	Limoneno
		0.54	Violeta	Limoneno
		0.80	Violeta	-----
Estándares	1,8 cineol	0.51	Violeta	
	Citral	0.04	Verde	
		0.08	Verde	
		0.18	Verde	
		0.24	Verde	
		Limoneno	0.05	Azul-Violeta
	0.10		Azul-Violeta	
	0.15		Azul-Violeta	
	0.20		Violeta	
	0.25		Violeta	
	0.30		Violeta	
	0.36		Violeta	
	0.37		Violeta	
	0.43		Violeta	
0.54	Violeta			
0.77	Violeta			

(Fuente: Datos experimentales)

* = Visible en luz UV a 365 nm

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

Revelador: Vanillina-ácido sulfúrico

IX. DISCUSIÓN

La materia vegetal de *L. guatemalensis* de las diferentes localidades investigadas presentó el mismo color, olor, forma y textura, tanto en materia vegetal fresca como en droga seca. También mostró similitudes en cuanto a las características microanatómicas, en hoja y tallo, por lo que fue posible aseverar que para fines farmacognósticos, a nivel macroscópico, organoléptico y microanatómico las localidades estudiadas fueron iguales.

El índice de estomas no resultó significativo ya que es fácilmente modificable según las condiciones ambientales y en este estudio fueron registradas similitudes interlocalidades, tanto en el tipo como en número de estomas presentes en las muestras (Fig. 7, 30 y 50) (Tabla 1).

Los resultados coinciden con la literatura en cuanto a que las hojas de *L. guatemalensis* presentan alcaloides, saponinas y aceites esenciales; pero además fue posible evidenciar reacciones positivas para almidones, mucílagos y taninos en todas las muestras estudiadas (Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

En cuanto al lugar anatómico de reacción fueron registradas diferencias mínimas en las tres localidades, posiblemente debido a fluctuaciones de temperatura, precipitación, luminosidad, altitud y tamaño de partículas del suelo de la zona de cultivo, así como, edad y fase fenológica de las plantas (Martin, 1983; Ocampo et al., 2007).

A nivel general la presencia de estos metabolitos proporcionó presuntivamente una explicación a la información reportada en la literatura para *L. guatemalensis* en cuanto a propiedades atribuidas a esta, tales como: propiedad astringente, posiblemente debida a taninos; estimulante a causa de la presencia de alcaloides y antiinflamatoria por presencia de mucílagos. Así como su uso con fines terapéuticos en afecciones respiratorias y gástricas conferidas posiblemente por la presencia abundante de mucílagos y saponinas (Martin & Woodcock, 1983; Cáceres, 1996; Méndez, 2002; Cáceres, 2006).

Para la determinación de humedad se utilizó una balanza de humedad programada a una temperatura de 105 °C. Este parámetro indicó la calidad en el secado de las muestras

estudiadas; y de acuerdo a la especificación de calidad para materia prima establecida internacionalmente por la OMS debe ser menor al 10 % para evitar contaminación (OMS, 1998).

En un estudio realizado en el 2008 por Cruz y col., en muestra médica seca sin especificación de fase fenológica, colectada en San Lucas Sacatepéquez se registró para *L. guatemalensis* un porcentaje de humedad de 9.41 %, valor que difiere a los reportados en la presente investigación posiblemente por las fases fenológicas analizadas y la estación climática en la cual tuvo lugar de colecta, especialmente en la fase de inicio de fructificación, ya que esta coincidió con el inicio de la época lluviosa (Tabla 2).

Los porcentajes de humedad más bajos fueron reportados en la fase fenológica de desarrollo foliar, con una desviación estándar de ± 0.07 para San Bartolomé Milpas Altas (9.5 %) y ± 0.23 para el Cerro Alux (10.4 %); mientras que los porcentajes más altos en estas localidades se registraron en la fase de inicio de fructificación en ambas localidades (11.4 % y 11.4 %, respectivamente), siendo esta última la localidad que presentó el porcentaje más alto de rendimiento de aceites esenciales.

En Magdalena Milpas Altas el menor porcentaje (9.7 %) se registró en la fase de inicio de floración con una desviación estándar de ± 0.33 y el porcentaje más alto (10.9 %) tuvo lugar en la fase de desarrollo foliar. Esta diferencia con respecto a las otras localidades a estudio, puede deberse a las condiciones de altitud y tipo de suelo, así como a las condiciones de riego del área, ya que esta localidad se ubica en una zona de cultivo de granos básicos (Anexo 4).

El porcentaje de cenizas, es un parámetro fisicoquímico que indica el contenido mineral, de metales pesados, arcilla y material orgánico presente en la droga vegetal y que según la OMS no debe exceder el 10 %. Duke & Archley (1986) reportaron un porcentaje de cenizas totales de 4.9 % para *L. guatemalensis*, mientras que en el estudio de Cruz y col. el porcentaje reportado fue de 3.96 % (OMS, 1998; Cruz, Cáceres, Medinilla, Paredes, Orozco, García y Letrán, 2008).

En la presente investigación fue posible observar que todas las determinaciones de cenizas totales se encontraban dentro de los límites esperados para todas las localidades de estudio, evidenciando alta calidad de la materia vegetal. Los porcentajes más bajos se registraron en la fase de fructificación, siendo estos 3.9 % para San Bartolomé Milpas Altas, 4.2 % para Cerro Alux y 4.3 % para Magdalena Milpas Altas (Tabla 3).

En años recientes se han reportado en la literatura diferentes porcentajes de rendimiento de aceites esenciales para muestra seca de *L. guatemalensis*, como es el caso del estudio realizado por Cruz y col. (2008) que presentó 0.70 % de rendimiento. En muestra seca, Ortiz (2005) reportó para ejemplares colectados de Chimaltenango, San Lucas y San Antonio Aguas Calientes una media total de 0.85 %.

En esta investigación se registraron porcentajes de rendimientos mayores en todas las localidades en las diferentes fases fenológicas, excepto en la fase de desarrollo foliar de San Bartolomé Milpas Altas (Tabla 4). Actualmente en el estudio llevado a cabo por Cruz (2011), se realizaron mediciones de este parámetro a partir de muestras de *L. guatemalensis* (con un período de almacenamiento mayor a un año) procedentes de las localidades de estudio, obteniéndose un rendimiento de 0.60 % (San Bartolomé Milpas Altas), entre 0.25 a 0.85 % (Cerro Alux) y 0.70 % (Magdalena Milpas Altas), respectivamente (Comunicación personal Cruz, 18 julio 2011).

Los valores más elevados de rendimiento de aceites esenciales en el Cerro Alux fueron registrados en la fase de inicio de fructificación, con una desviación estándar de ± 0.29 , mientras que en Magdalena Milpas Altas el porcentaje más elevado se registró durante la fase de inicio de floración, con una desviación estándar de ± 0.32 . Tal y como se reporta en otras especies vegetales productoras de aceites esenciales, mientras que San Bartolomé Milpas Altas no evidenció diferencia entre la fase de inicio de floración e inicio de fructificación (Martin, 1983).

En cuanto a los factores que afectan el rendimiento de aceites se puede mencionar el tipo de materia prima, que se refiere a las características genéticas de la planta, las cuales se ven influidas por el lugar y la época de producción, la maduración o edad de la planta y

enfermedades que esta sufra, como en el caso de San Bartolomé Milpas Altas, donde el ejemplar a estudio presentó menor edad estimada y colonización fúngica (Anexos 3-5). También influyen en el rendimiento el tiempo de secado, características del equipo de extracción, cantidad de materia prima utilizada, volumen y pureza del disolvente, cantidad de agua o vapor utilizado, temperatura y presión; tamaño de la partícula, tiempo, número de repeticiones y métodos de extracción (Martin, 1983).

La caracterización de aceites para las muestras de estudio por el método de cromatografía en capa fina obtuvo un alto nivel de coincidencia de Rf con las bandas del estándar de limoneno, pese a que en la literatura y en el estudio realizado por Cruz, empleando cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas (CG-EM), el 1,8 cineol es el aceite esencial que reporta mayor concentración. Este resultado puede haber sido influido por las limitantes propias de la técnica analítica empleada en esta investigación (Domínguez, 1975; Vallverdú et al., 2005).

También se registraron 9 valores de Rf que no presentaron ninguna similitud con los valores de los estándares utilizados, y que no pudieron ser identificados presuntivamente debido a que no fue posible contar con un número mayor de estándares de comparación dentro del procedimiento analítico, incluso se registró la presencia de tres bandas que fueron visibles únicamente con luz UV a 365 nm, las cuales tampoco pudieron ser identificadas (Tabla 5).

No fue posible establecer coincidencias entre el estándar de citral y las muestras analizadas, debido a que por causas indeterminadas, las bandas de dicho estándar no presentaron el color característico que reporta la literatura, azul violeta, al utilizar Vanillina-ácido sulfúrico como revelador y Tolueno-acetato de etilo (93:7) como fase móvil. Tampoco mostró valores de Rf que permitieran la identificación del mismo en las muestras (Wagner, Bladt & Zgainsk, 1984).

Al comparar los datos obtenidos en este estudio para *L. guatemalensis* y los datos reportados en la literatura para *L. nobilis* (laurel europeo), fue evidente que ambas especies comparten similitudes en cuanto a características macroscópicas, organolépticas,

histológicas y microanatómicas; y difieren en cuanto a la altitud y altura máxima de crecimiento; pues *L. nobilis* reporta en la literatura crecimiento a 800 msnm y presenta una altura aproximada de 15 m, mientras que *L. guatemalensis* puede crecer a una altitud máxima de 3150 msnm y no excede los 6 m de altura, tal y como se observa en los datos de campo registrados (anexos 3-5) (Cáceres, 1996; Atlas de plantas medicinales, 1998; Cáceres, 2006; Menéndez, 2006).

También difieren en las dimensiones foliares, la distribución de aceites esenciales y la presencia de estomas, ya que en *L. guatemalensis* fue evidente depósitos de aceite distribuidos indistintamente en los tejidos y estomas de tipo anomocíticos, mientras que *L. nobilis* reporta estomas de tipo paracíticos y depósitos de aceite ubicados en células grandes (Jackson, 1990; Cáceres, 1996; Cáceres, 2006).

X. CONCLUSIONES

1. No existe diferencia en las características macroscópica, organoléptica y microanatómica de la materia vegetal de *L. guatemalensis*, proveniente del Cerro Alux, San Bartolomé y Magdalena Milpas Altas.
2. No hubo diferencia en el índice de estomas entre las localidades a estudio.
3. El mejor porcentaje de rendimiento de aceites esenciales se reportó en las fases de inicio de floración e inicio de fructificación.
4. La mayor coincidencia de Rf en la caracterización de aceites se obtuvo con el estándar de limoneno.
5. En las fases fenológicas de inicio de floración de San Bartolomé Milpas Altas e inicio de fructificación de Cerro Alux se demostró la presencia de 1,8 cineol.
6. Los porcentajes de cenizas totales en todas las muestras estudiadas se encontraron dentro de los límites establecidos por la OMS.
7. El porcentaje de humedad en la fase fenológica de desarrollo foliar en Magdalena Milpas Altas e inicio de fructificación para San Bartolomé Milpas Altas y Cerro Alux se encuentra fuera de los límites establecidos por la OMS.
8. La única diferencia micromorfológica entre *L. guatemalensis* y *L. nobilis* fue la distribución de aceites en los tejidos y el tipo de estomas.

XI. RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas histoquímicas en infusión de hoja como método secundario de comprobación de los resultados.
2. Realizar ensayos de secado al horno para alcanzar humedad recomendada por OMS.
3. Realizar más estudios fitoquímicos que permitan establecer variaciones en los metabolitos de la planta a estudio en las diferentes fases fenológicas.
4. Realizar estudios complementarios de especímenes de *L. guatemalensis* provenientes de áreas diferentes a las muestreadas en esta investigación, que en la literatura reportan crecimiento de dicha materia vegetal.
5. Determinar los parámetros de calidad durante el inicio, intermedio y final de las diferentes fases fenológicas de la planta, con el fin de evaluar la existencia de diferencias significativas entre las mismas.
6. Caracterizar los aceites esenciales de muestras de *L. guatemalensis* provenientes de las localidades estudiadas (sin almacenamiento previo), mediante cromatografía de gases o cromatografía de gases acoplado a espectrofotometría de masas (CG-EM).
7. Recabar información sobre las diferentes propiedades de los ejemplares a estudio tales como: materia extraña, contaminación microbiana, aflatoxinas, radioactividad, constantes físicas, residuos tóxicos, metales pesados, etc; que permita completar los datos de calidad.
8. Integrar los resultados de la presente investigación con los que se han generado sobre propiedades medicinales de *L. guatemalensis*, para la elaboración de una monografía de calidad que respalde tanto su uso popular y comercialización, así como su incorporación a una farmacopea.

XII. REFERENCIAS

- Aguilar, J.H., Torres, P., Valdés, A.M., Chuy, S., y Paniagua, R. (comp.). (2005). Manual de prácticas de laboratorio de Bioquímica I. Guatemala, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- Arteche, E., Cañigüeral, S., y Villa, R. (1998). *Fitoterapia: vademécum de prescripción* (3a ed). Bilbao, España: Masson S.A.
- Arteche, Y. (2007). *Apoyo psicoeducativo dirigido a jóvenes y maestros del Instituto de Educación por Cooperativa "San Bartolomé Milpas Altas"* (tesis licenciatura). Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Escuela de Ciencias Psicológicas.
- Ballvé, A.C., Saraiva, N.C., Mentz, L.A., Silva, G.A.B., y José, K.F.D. (1995). *Plantas medicinales de uso popular (Atlas farmacognóstico)*. Canoas, Brasil: Editorial ULBRA
- Barla, A., Topcu, G., Öksüz, S., Tümen, G., & Kingston, D. (2007). Identification of cytotoxic sesquiterpenos from *Laurus nobilis* L. *Food Chemistry*. 104(4), 1478-1484.
- Cáceres, A. (1996). *Plantas de uso medicinal en Guatemala*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Cáceres, A. (2006). *Vademécum nacional de plantas medicinales*. Guatemala: Editorial Universitaria.
- Consejo Nacional de Áreas Protegidas, Unidad Técnica Cordillera Alux. (2010). *Plan maestro, reserva forestal protectora de manantiales Cordillera Alux 2010-2014*. Guatemala: Autor.
- Constitución de la República de Guatemala. (1961). Guatemala: Tipografía Nacional.

- Cronquist, A. (1987). *Botánica básica*. México D.F.: Editorial Continental S.A.
- Cruz, S., Cáceres, A., Medinilla, B., Paredes, M.E., Orozco, R., García, E., y Letrán, H. Caracterización química y evaluación de la actividad biológica de *Bourreria huanita* (Llave & Lex.) Hemsl. (Esquisuchil) y *Litsea guatemalensis* Mez. (laurel). (Informe-2008-087). (Febrero-diciembre 2008). Guatemala: USAC, DIGI, PUICB, FCQF, IIQB, LIPRONAT.
- Cruz, S. (18 julio 2011). Comunicación personal. Datos no publicados del Proyecto Fodecyt 51-09
- Del control de calidad a la gestión de calidad y las buenas prácticas agrícolas: herramientas de inocuidad y mercadeo. (2004). *Revista industria y alimentación internacional*. 14(23), 32-37.
- Domínguez, X. (1975). *Cromatografía en papel y en capa delgada*. Washington: Unión Panamericana. Dpto. de Asuntos Científicos. Serie Química.
- Duke, J.A., & Archley, A.A. (1986). *Handbook of proximate analysis tables of higher plants*. Boca Raton, Florida: CCR Press Edition.
- Fahn, A. (1982). *Anatomía vegetal*. Madrid: Ediciones Pirámide S.A.
- Font, P. (1982). *Diccionario de Botánica*. Barcelona: Editorial Labor S.A.
- Forés, R. (1998). *Atlas de las plantas medicinales y curativas, la salud a través de las plantas*. Madrid: Editorial Cultural S.A.
- Fuller, H., Carothers, Z., Payne, W., y Balbach, M. (1974). *Botánica* (5a ed). México: Editorial Interamericana S.A.
- Gattuso, M.A. y Gattuso, S.J. (1999a). *Conocimientos básicos de técnicas histológicas en materia vegetal*. Rosario, Argentina: UNR Editora.

- Gattuso, M.A. y Gattuso, S.J. (1999b). *Manual de procedimientos de drogas en polvo*. Rosario, Argentina: UNR Editora.
- Genaro, A.R. (1998). *Remington, ciencia y práctica de la farmacia* (19a ed.). (2 tomos). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.
- Gobierno de Chile, Fundación para la innovación agraria (*Boletín de plantas medicinales y aromáticas*). (2003, 8 de febrero). Chile: Autor.
- Gola, G; Negri, G; y Cappellett, C; (1965). *Tratado de Botánica* (2a ed). Barcelona: Editorial Labor S.A.
- Granados, N. (2009). *Phyla dulcis (Trevir.) Moldenke: Determinación de características anatómicas diagnósticas de la droga cruda* (Tesis de maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Herman, J. (1984). *Farmacotécnica; técnica y práctica*. (3 tomos). México D.F.: Editorial Continental S.A.
- Herrera, C.L. (2009). *Caracteres de identidad de las Valerianas de Guatemala* (Tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Jackson, B.P., & Snowdon, D.W. (1990). *Atlas of microscopy of medicinal plants, culinary herbs and spices*. London: CRC
- Jayes Reyes, P., Navas, P., Pérez Sabino, F., De León, J. L., Farfán Barrera, C., y Mérida Reyes, M. Aceites esenciales de nueve plantas nativas de Guatemala, familias Verbenaceae y Lauraceae. (Informe final proyecto). (2006). Guatemala: USAC, DIGI, PUICB, FCQF, IIQB, LIPRONAT.

Kuklinski, C. (2000). *Farmacognosia, estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural*. Barcelona: Omega S.A.

Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT). (2005). *Manual de Operaciones, proceso operativo estándar, rendimiento de aceites esenciales y tamizaje fitoquímico*. Guatemala: Autor.

Ley del sistema nacional de calidad (Decreto 82-2005). (2005, 24 de noviembre). *Diario de Centroamérica*, 19, (2005, 8 de diciembre).

Martin, H., & Woodcock, D., (1983). *The Scientific Principles of Crop Protection* (7a ed). London. Recuperado de: http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/ap/ciencias_quimicas_y_farmaceuticas/apbot-farm2c/evanswc01/09b.html

Martínez, J.V. (1995). *Informe nacional para la conferencia técnica internacional de la FAO sobre los recursos fitogenéticos*. Guatemala. Recuperado de: <http://www.pgrfa.org/gpa/gtm/pdfs/guatemala.pdf>

Medinilla, B. (2009). *Documento de apoyo, Introducción a la farmacognosia, concepto y desarrollo, ciencias relacionadas, importancia y futuro*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Méndez, V. (2002). *Determinación de la actividad cicatrizante de las hojas de Litsea guatemalensis (laurel) en heridas producidas a ratas albinas* (tesis de licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.

Menéndez Valderrey, J.L. (2006). *Laurus nobilis* L. España: Recuperado de: <http://www.asturnatura.com/especie/laurus-nobilis.html>

- Missouri Botanical Garden. (2009). Coordinates *Litsea guatemalensis* Mez. Missouri. Recuperado de: <<http://www.tropicos.org/Name/17800366>>
- Moreno, E. (2007). *Pasado, presente y futuro de la fitoterapia; avances en fitoterapia*. Andalucía, España: Universidad Internacional de Andalucía.
- Ocampo, R.A., Martínez, J.V., y Cáceres, A. (2007). *Manual de Agrotecnología de plantas medicinales nativas, proyecto de desarrollo de tecnología de cultivo de plantas medicinales y productos fitoterápicos*. San José, Costa Rica: Sanabria.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (1998). *Quality control methods for medicinal plant materials*. Ginebra: Autor. Recuperado de: <http://www.who.org>
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2003). *Buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Ginebra: Autor
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2005). *Políticas y regulación; curso de gestión de calidad para Laboratorio*. Ginebra: Autor.
- Ortiz, C. (2005). *Obtención y comparación fisicoquímica a nivel de laboratorio del aceite esencial de laurel de dos diferentes especies (L. guatemalensis Mez. y L. glaucescens HBK.) colectadas en tres diferentes lugares* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Paredes, M.E. (2005). *Determinación de algunos estándares de identidad y pureza de cuatro plantas medicinales comerciales en Guatemala* (Tesis de Maestría). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.
- Pahlow, M. (1985). *El gran libro de las plantas medicinales; la salud mediante las fuerzas curativas de la naturaleza* (5a ed). León, España: Editorial Everest.

Programa de conservación de la biodiversidad y desarrollo sustentable en los humedales del este, (PROBIDES). (s.f.). Ficha 6: La flora entre las manos, ¿Cómo elaborar un herbario? Uruguay. Recuperado de: <http://www.pocitosdayschool.edu.uy/images/HERBARIO%5B1%5D.pdf>

Proyecto de manejo de abejas y del bosque. (s.f.). *Laurel*. El Salvador. Recuperado de: http://www.bio.uu.nl/promabos/arbolesmeliferos/pdf_files/Laurel.PDF

Quñonez, S.P. (2008). *Actividad micobactericida de extractos de árboles popularmente utilizados para infecciones pulmonares* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.

Real, M. (s.f.). *Colecta y herborización de plantas tóxicas*. Guadalajara: Departamento de salud pública, Universidad de Guadalajara

Ricci, M., Padín, S.B., Kahan, A.E., y Hennig, C., (s.f.). *Evaluación del efecto repelente del aceite de *Laurus nobilis* L. (Lauracea) sobre *Myzus persicae* Sulz. (Homoptera: Aphididae) en cultivos de pimiento y repollo*. Argentina: Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. Universidad Nacional de La Plata.

Rodríguez, C. (2000). *Autenticación citohistológica de cuatro plantas medicinales nativas* (Tesis de Licenciatura). Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Guatemala.

Romero, J. (1996). *Puntos Críticos. El sistema de análisis de peligros y puntos críticos de control, aplicado paso a paso al aseguramiento de la calidad de productos alimenticios*. Bogotá: Corporación Colombia Internacional.

Sandoval, E., y Rojas, A. (s.f.). *Técnicas aplicadas al estudio de la anatomía vegetal*. México: Instituto de biología, Universidad Nacional Autónoma de México.

- Simi, M., Kundakovi, T., & Kova, N., (2003). Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia*. 74(6), 613-616.
- Standley, P.C., & Steyermark, J.A. (1952). Flora of Guatemala. *Fieldiana: Botany*. 24(3), 316
- Trease, G.E., y Evans, W.C. (1984). *Farmacognosía*. México D.F.: Editorial Médica Panamericana.
- Vallverdú, C., Villa, R., Cruz, S., Cáceres, A., & Cañigüeral, S. (2005). Composition of the essential oil from leaves of *Litsea guatemalensis*. *Flavour and Fragrance Journal*. 20 (4), 415-418.
- Volák, D.J., y Stodola, J. (1984). *Plantas medicinales* (2a ed). Checoslovaquia: TSNP.
- Wagner, H., Blatt, S., & Zgainsk, E.M. (1984). *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography Atlas*. Berlín: Ed Springer-Verlag

XIII. ANEXOS

ANEXO 1: Condiciones de recolección o cosecha de diferentes estructuras vegetales

Parte utilizada	Forma de recolección
Flores	De acuerdo con la época de floración (estacional) en luna nueva por la mañana
Hojas	En plantas con aceite esencial, al inicio de la floración; en plantas con saponinas, durante la maduración de los frutos en luna creciente por la mañana.
Raíces	De plantas adultas después de la fructificación, en luna llena por la tarde
Fruto/semillas	De acuerdo con la época de fructificación (estacional), en luna llena por la mañana.
Corteza	De árboles adultos, después de floración, en luna llena por la tarde y en época seca.

Cáceres, A. Plantas de Uso medicinal en Guatemala. Guatemala: Editorial Universitaria 1996 402p

ANEXO 2: Zonas de colecta de *L. guatemalensis*

País	Tierras altas	Tierras bajas	Elevación	Latitud	Longitud	Fecha	Colectores	No. colección	Institución
Guatemala						21 Sep 1998	Anónimo	s.n.	MO
Guatemala						5 Mar 1994	G. Bll & M. Véliz	94.3596	MO
Guatemala						5 Mar 1994	G. Bll & M. Véliz	94.3595	MO
Guatemala			2700 m			8 Aug 1992	M. Véliz	92.2219	MO
Guatemala	Huehuetenango	San Sebastian Coatan	2200 m	[15°44'00"N]	[091°34'00"W]	8 Mar 1995	M. Véliz	95.4526	MO
Guatemala	Sacatepequez	Antigua Guatemala	1950 m	14°33'22"N	090°41'06"W	4 Nov 1992	M. Véliz	s.n.	MO

Missouri Botanical Garden. (2009). Coordinates *Litsea guatemalensis* Mez. Missouri. Recuperado de:

<<http://www.tropicos.org/Name/17800366>>

Anexo 3: Datos de colecta de San Bartolomé Milpas Altas

Fecha de colecta	Febrero a mayo del 2009
Lugar de colecta	14° 35' 50.0" N, 90° 41' 35.4" O W 693 m
Altitud	2724 msnm
Hábitat de la planta	Planta silvestre, ubicada en una zona de cultivo de durazno y pera, en una región montañosa
Características de la planta	<ul style="list-style-type: none"> - Árbol - Diámetro del tronco aproximado de 35 cm - Altura aproximada de 3 m de alto con ramas finas de color café - Flores en racimo de color amarillo. - Edad estimada de 15 años.
Descripción del área de colecta	<p>Se encuentra en el Km 30 a Km 31 ½ de la CA-1 hacia la Ciudad Capital. Tiene un área aproximada de 8.36 Km², Colinda al norte con el Municipio de Santiago Sacatepéquez, al sur con el municipio de Santa Lucia Milpas Altas, al Este con el municipio de San Lucas Sacatepéquez y al Oeste por los municipios de Sumpango Sacatepéquez y la Antigua Guatemala (sur-oeste). Se localiza entre 14°36' 5508", 14°35' 00" Latitud Norte, y los meridianos 90°42' 23.7", 90°40' 10" Longitud Oeste. Se encuentra a una altura media de 2,200 msnm.</p> <p>Su topografía es bastante irregular e inclinada, con varios tipos de suelos cauqué, que se caracterizan por ser profundos, bien drenados, desarrollados en clima seco, sobre ceniza volcánica pomácea, firme y grueso.</p> <p>El régimen de lluvias en esta zona varía desde los 7 mm hasta 1588 mm, promedio 1355 mm de precipitación pluvial anual. No posee ríos ni riachuelos, solamente algunos nacimientos de agua que brotan en el interior del bosque comunal.</p> <p>Con respecto a las formaciones forestales, la vegetación boscosa en el municipio es muy escasa, actualmente sólo se encuentran pequeñas áreas de monte alto o arbustivo. Su clasificación se incluye dentro del Bosque Húmedo Montano Bajo (bh-MB), en donde abundan árboles de encino. (Arteche, 2007)</p>

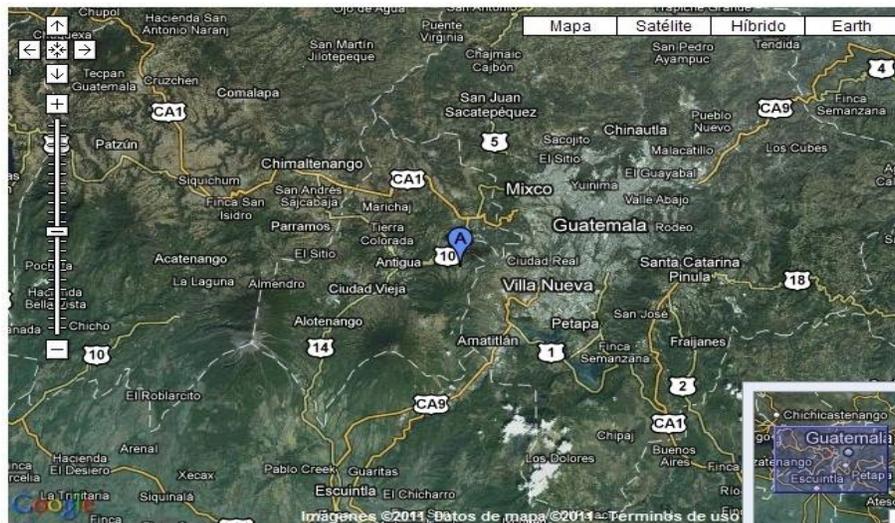
Mapa satelital del área de colecta



Anexo 4: Datos de colecta de Magdalena Milpas Altas

Fecha de colecta	Febrero a mayo del 2009
Lugar de colecta	14° 33´ 22.0" N, 90° 40´30.1" O SW 2 m
Altitud	1993 msnm
Hábitat de la planta	Planta de tipo silvestre ubicada en una zona de cultivo de maíz y frijol.
Características de la planta	<ul style="list-style-type: none"> - Árbol - Diámetro del tronco aproximado de 45 cm - Altura aproximada de 5 m de alto con ramas finas de color café - Flores en racimo de color amarillo. - Edad aproximada de 20 años
Descripción del área de colecta	<p>Se encuentra ubicado en la parte central del departamento, su extensión territorial es de 8 km². Dista de la cabecera departamental de Antigua Guatemala 12 km. Las coordenadas de localización del centro urbano son: latitud 14°32'52" N; longitud, 90°40'30" O y entre 2,045 a 2,445 msnm.</p> <p>Los Valores climatológicos del área no son muy variados, las lluvias se distribuyen en 120 días al año con temperatura media anual de 20 °C. La precipitación media anual oscila entre los 1,100 y 1,200 mm, siendo el mes más seco Febrero, con una precipitación promedio de 5 mm y el más lluvioso Septiembre con 710 mm.</p> <p>En cuanto al proceso de evapotranspiración en la zona, los valores indican que existe un superávit de humedad del 0.20, la zona esta considerada con un grado de amenaza por sequía de Medio a Medio bajo, el clima esta catalogado como una zona de vida de “<i>Bosque Húmedo Subtropical</i>”.</p> <p>Las características físicas del bosque son muy variadas con especies de coníferas y del tipo latifoliado entre los más característicos son las lauráceas como el encino, roble y aliso, y especies de los géneros <i>Pinus</i>, <i>Cupressus</i>, <i>Quercus</i>, <i>Ostrya</i> y <i>Agnus</i>, los ecosistemas más típicos en esta montaña son los pinares, robledales, nogales, encinares y cipresales (Arteche, 2007).</p>

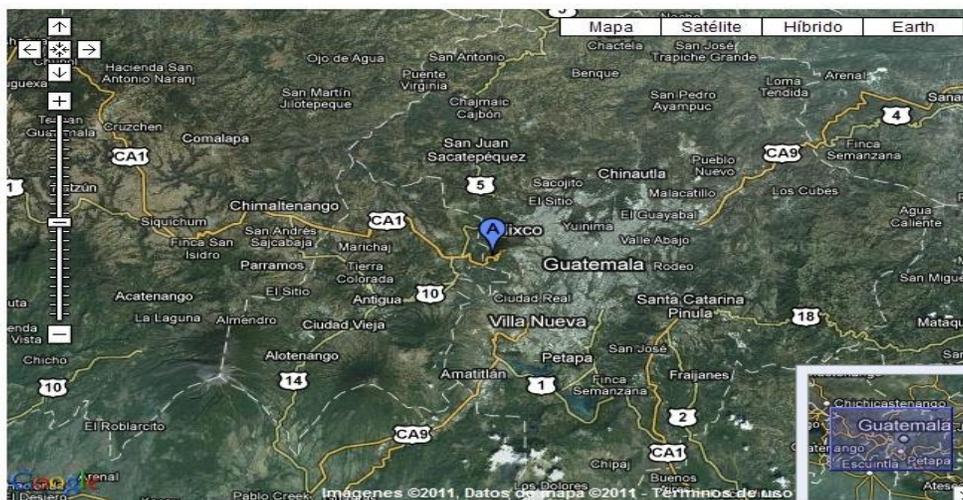
Mapa satelital del área de colecta



Anexo 5: Datos de colecta de Cerro Alux

Fecha de colecta	Febrero a mayo del 2009
Lugar de colecta	14° 36'42.2" N, 90° 37' 47.1" O posición +/- 6m
Altitud	2108 msnm
Hábitat de la planta	Planta silvestre, ubicada en una región montañosa rodeada de diversos árboles frutales y plantas ornamentales.
Características de la planta	<ul style="list-style-type: none"> - Árbol - Diámetro del tronco aproximado de 50 cm - Altura aproximada de 5 m de alto con ramas finas de color café - Flores en racimo de color amarillo. - Edad estimada de 25 años
Descripción del área de colecta	<p>El Cerro Alux forma parte de la Cordillera Alux, la cual tiene un perímetro de 29.32 km, abarcando parte de los municipios de Mixco, San Pedro Sacatepéquez y San Juan Sacatepéquez, del departamento de Guatemala y los municipios de Santiago Sacatepéquez y San Lucas Sacatepéquez, del departamento de Sacatepéquez.</p> <p>Los suelos de la Cordillera Alux, se ubican dentro de la región fisiográfica “Tierras Altas Volcánicas y la Subregión Montañosa y Planicie Central”. Las diferencias altitudes de la Cordillera Alux, van desde los 1,600 a 2,305 msnm. El cerros Alux, presenta elevaciones cercanas a los 2,200 msnm.</p> <p>La Cordillera Alux corresponde al Bosque Húmedo Montano Bajo Subtropical (Bh-Mb). El clima prevaleciente es templado, con invierno benigno, húmedo y estación seca. En el área se definen dos épocas: la seca, de noviembre a abril, y la lluviosa de mayo a octubre.</p> <p>La humedad relativa es de 78.45% y la precipitación media anual se estima en 1265.80 mm, sin embargo, se considera que estos valores se encuentren debajo de los niveles reales, dado que estos no recogen la precipitación en forma de rocío o que queda en los árboles (precipitación horizontal), dada la presencia de la nubosidad, durante la tarde y el año.</p> <p>La evapotranspiración media anual es de 830.66 mm. El suelo superficial a una profundidad de 15 cm es franco o franco-arcilloarenoso, friable de color café oscuro, con un alto contenido de humus y estructura granular fina. A profundidades de 50 cm hasta más de un metro, la estructura es granular suave y con un valor de pH de 6.0. (Consejo Nacional de Áreas Protegidas, 2010).</p>

Mapa satelital del área de colecta



Anexo 6: Constancia

PLANTAS MEDICINALES

Etnobotánica

Agrotecnología

Inspección orgánica de cultivos y procesos

Guatemala, 03 de marzo de 2011.

Materia seca vegetal

Control de calidad

A quien interese:

Extractos vegetales

Investigación farmacológica

Por este medio hacemos constar que la Br. María Elena Chicas depositó en nuestro herbario CFEH del Laboratorio de Productos Naturales Farmaya, las siguientes muestras de *Litsea guatemalensis* Mez.:

Fitofarmacóuticos

1. Cerro Alux, San Lucas Sacatepéquez del 9 de marzo de 2009, correspondiéndole el número 1092.

Registro de productos

2. Magdalena Milpas Altas, Sacatepéquez del 9 de marzo de 2009, correspondiéndole el número 1093.

Fitoterapia

3. San Bartolomé Milpas Altas, Sacatepéquez del 9 de marzo de 2009, correspondiéndole el número 1094.

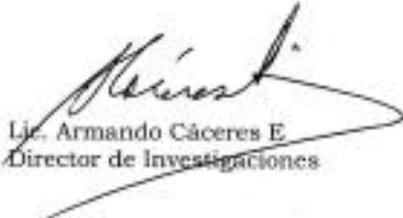
Difusión e información

Capacitación

A solicitud de la interesada extendemos la presente

Asesoría y transferencia


Br. Luis E. Alvarez
Botánico, Herbario CFEH


Lic. Armando Cáceres E.
Director de Investigaciones



Laboratorio de Productos Naturales

FARMAYA, S. A.

Avenida Centro América 118-92, Zona 1 • Tel/Fax: (502) 2230-5006 • Tel.: (502) 2221-4967
Apartado Postal 1160, Guatemala, Guatemala
E-mail: farmaya.sa@explonet.com

Anexo 7: Constancia



HERBARIO BIGU

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

5 de mayo de 2009

A QUIEN INTERESE:

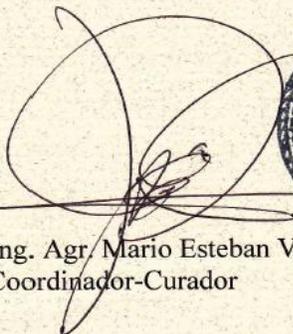
Por este medio se hace constar que la señorita **MARIA ELENA CHICAS**, carné 200311242, estudiantes de la carrera de Química Biológica de esta casa de estudio, depositó en este herbario especímenes para su determinación, estos fueron determinados como *Litsea guatemalensis* Mez. (Lauraceae), registrados en las colecciones del herbario con los siguientes números:

- No. BIGU 47543, del municipio Magdalena Milpas Altas, Sacatepéquez,
- No. BIGU 47544, del municipio San Lucas Sacatepéquez, Cerro Alux.
- No. BIGU 47545, del municipio San Bartolomé Milpas Altas, Sacatepéquez

A solicitud de la interesada, se le extiende la presente en el mismo lugar y fecha arriba indicados.

Atentamente,

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”



Ing. Agr. Mario Esteban Véliz Pérez
Coordinador-Curador



María Elena Chicás Escobar

Autora



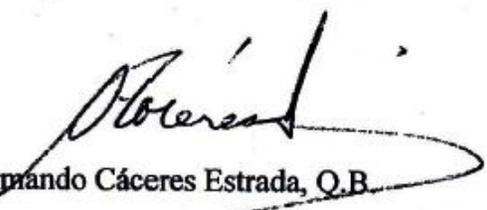
M.A. María Eugenia Paredes Sánchez, Q.B.

Asesora



M.A. Ana Margarita Paz, Q.B.

Revisora



Lic. Armando Cáceres Estrada, Q.B.

Revisor



MSc. Vivian Lucrecia Matta Ríos

Directora de Escuela



Oscar Cobar Pinto, PhD.

Decano