



UNIVERSIDAD DE CUENCA

RESUMEN

El control de calidad de la droga vegetal a utilizar para la obtención de extractos, es un factor de gran importancia para garantizar la seguridad, eficacia e inocuidad del producto final obtenido. Es por esta razón que realizamos un estudio sobre los métodos de control de calidad que nos da la OMS, para controlar la calidad de la materia prima y validar los procedimientos de Selección, Lavado, Secado y Almacenamiento que se realizan en el proyecto VLIR de plantas medicinales de la Escuela de Bioquímica y Farmacia.

El estudio inició con la selección de las plantas a utilizar, se escogió 7 especies aleatoriamente de la lista de plantas herbáceas del proyecto VLIR, recolectadas en 5 lugares distintos del Austro Ecuatoriano. Se caracterizó botánicamente cada una de las plantas, se recolectó y se procedió a realizar la selección, lavado, secado y almacenamiento de estas para luego realizar las pruebas de Control de Calidad.

Los resultados obtenidos de estas pruebas se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la OMS, únicamente en la prueba de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico, las plantas Sacha Anís y Ñachig, dieron resultados por encima de los valores permitidos posiblemente debido a la presencia de lignina y suberina en la hoja del Sacha anís, sustancia que es insoluble en ácido. En el Ñachig, no se encontró la causa del aumento, pero podría deberse a la presencia de lignina, suberina o sílice.

Con estos resultados se valida los procesos de Selección, Lavado, Secado y Almacenamiento de la droga vegetal que se utiliza en el proyecto VLIR.

Palabras Claves: Control de Calidad, Organización Mundial de la Salud, Validación, Fitomedicamentos, Selección, Lavado, Secado y Almacenamiento de plantas medicinales.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
JUSTIFICACIÓN	2

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1. CONTROL DE CALIDAD	3
1.1 Adulteración y Deterioro	4
1.1.1. Tipos de Adulteraciones y Sustituciones de Drogas Herbales	4
1.1.2. Deterioro de la Droga Vegetal	5
1.2. Control de Calidad de Plantas Medicinales	6
1.2.1. Estándares de Calidad de los Productos a base de Hiervas	7
1.2.2. Factores Relacionados a la Calidad de las Drogas Herbales	8
1.2.3. Parámetros para asegurar la Calidad de Plantas Medicinales	8
1.3. Procesamiento de las Drogas Vegetales	10
1.3.1. Recolección	10
1.3.2. Procesos Post Cosecha	12
1.4. Plantas Medicinales utilizadas para este Trabajo	13
1.4.1. Sacha Zanahoria	13
1.4.2. Ñachig	13
1.4.3. Karipoleo	14
1.4.4. Chullku	15
1.4.5. Mortiño	15
1.4.6. Sacha Anís	16
1.4.7. Chilpalpal	17

CAPÍTULO II

2. Materiales y Métodos	18
2.1. Muestras Vegetales	18
2.2. Reactivos	20
2.3. Métodos	20
2.3.1. Selección de las plantas	20
2.3.2. Recolección	21



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.3.3. Selección 21

2.3.4. Lavado 21

2.3.5. Secado..... 22

2.3.6. Almacenamiento 23

2.4. Análisis Físico - Químico 23

2.4.1. Examinación Macroscópica y Microscópica..... 23

2.4.2. Determinación de Cenizas Totales 24

2.4.3. Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico 25

2.4.4. Determinación de Humedad..... 26

2.4.5. Determinación Microbiológica 27

CAPÍTULO III

3. Resultados y Discusión 30

3.1. Caracterización Macroscópica..... 30

3.1.1. *Arracacia elata* (Sacha Zanahoria)..... 30

3.1.2. *Bidens andicola* (Ñachig) 30

3.1.3. *Minthostachys mollis* (Karipoleo)..... 30

3.1.4. *Oxalis peduncularis* (Chullku)..... 30

3.1.5. *Solanum nigrescens* (Mortño) 31

3.1.6. *Tagetes filifolia* (Sacha Anís)..... 31

3.1.7. *Valeriana tomentosa* (Chilpalpal) 31

3.2. Caracterización Microscópica..... 32

3.2.1. *Arracacia elata* (Sacha Zanahoria)..... 32

3.2.2. *Bidens andicola* (Ñachig) 33

3.2.3. *Minthostachys mollis* (Karipoleo)..... 33

3.2.4. *Oxalis peduncularis* (Chullku)..... 34

3.2.5. *Solanum nigrescens* (Mortño) 35

3.2.6. *Tagetes filifolia* (Sacha Anís)..... 35

3.2.7. *Valeriana tomentosa* (Chilpalpal) 36

3.3. Determinación de Cenizas Totales 36

3.4. Determinación de Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico..... 40

3.5. Determinación de Humedad 45



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.6. Determinación de Mohos y Levaduras	49
3.7. Determinación de Coliformes Totales	53
3.8. Determinación de Bacterias Aerobias Mesófilas	57

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	62
4.1. CONCLUSIONES	62
4.2. Recomendaciones	63
5. BIBLIOGRAFÍA	64
6. ANEXOS	67

Índice de Tablas

Tabla 2.1: Lugares de Recolección de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>)	18
Tabla 2.2: Lugares de Recolección del Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	18
Tabla 2.3: Lugares de Recolección del Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>)	18
Tabla 2.4: Lugares de Recolección del Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	19
Tabla 2.5: Lugares de Recolección del Mortiño (<i>Solanum nigrescens</i>)	19
Tabla 2.6: Lugares de Recolección del Sacha Anís (<i>Tagetes filifolia</i>)	19
Tabla 2.7: Lugares de Recolección del Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i>)	20
Tabla 3.1: Porcentaje de cenizas totales de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>) ..	37
Tabla 3.2: Porcentaje de cenizas totales del Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	37
Tabla 3.3: Porcentaje de cenizas totales del Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>) ...	38
Tabla 3.4: Porcentaje de cenizas totales del Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	38
Tabla 3.5: Porcentaje de cenizas totales del Mortiño (<i>Solanum nigrescens</i>)	39
Tabla 3.6: Porcentaje de cenizas totales del Sacha Anís (<i>Tagetes filifolia</i>)	39
Tabla 3.7: Porcentaje de cenizas totales del Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i>) ...	40
Tabla 3.8: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>)	41
Tabla 3.9: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	41
Tabla 3.10: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>)	42



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.11: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	42
Tabla 3.12: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Mortiño (<i>Solanum nigrescens</i>)	43
Tabla 3.13: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Sacha Anís (<i>Tagetes filifolia</i>).....	43
Tabla 3.14: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i>)	44
Tabla 3.15: Porcentaje de humedad de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>)	46
Tabla 3.16: Porcentaje de humedad del Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	46
Tabla 3.17: Humedad del Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>)	47
Tabla 3.18: Humedad del Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	47
Tabla 3.19: Humedad del Mortiño (<i>Solanum nigrescens</i>)	48
Tabla 3.20: Humedad del Sacha Anís (<i>Tagetes filifolia</i>)	48
Tabla 3.21: Humedad del Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i>)	49
Tabla 3.22: Mohos y Levaduras de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>)	50
Tabla 3.23: Mohos y Levaduras de Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	50
Tabla 3.24: Mohos y Levaduras de Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>)	51
Tabla 3.25: Mohos y Levaduras de Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	51
Tabla 3.26: Mohos y Levaduras de Mortiño (<i>Solanum nigrescens</i>)	52
Tabla 3.27: Mohos y Levaduras de Sacha Anís (<i>Tagetes filifolia</i>)	52
Tabla 3.28: Mohos y Levaduras de Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i>)	53
Tabla 3.29: Coliformes Totales de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>)	54
Tabla 3.30: Coliformes Totales de Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	54
Tabla 3.31: Coliformes Totales de Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>)	55
Tabla 3.32: Coliformes Totales de Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	55
Tabla 3.33: Coliformes Totales de Mortiño (<i>Solanum nigrescens</i>)	56
Tabla 3.34: Coliformes Totales de Sacha Anís (<i>Tagetes filifolia</i>)	56
Tabla 3.35: Coliformes Totales de Chilpalpal (<i>Valeriana tomentosa</i>)	57
Tabla 3.36: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Sacha Zanahoria (<i>Arracacia elata</i>)	58
Tabla 3.37: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Ñachig (<i>Bidens andicola</i>)	58
Tabla 3.38: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Karipoleo (<i>Minthostachys mollis</i>) .	59
Tabla 3.39: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Chullku (<i>Oxalis peduncularis</i>)	59



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.40: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Mortiño (*Solanum nigrescens*) 60
Tabla 3.41: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Sacha Anís (*Tagetes filifolia*) 60
Tabla 3.42: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*) . 61

Índice de Fotos

Foto 2.1 Plantas esparcidas para su posterior procesamiento 21
Foto 2.2 Selección de las hojas..... 22
Foto 2.3 Secado al ambiente..... 22
Foto 2.4 Estufa de secado Pro3 22
Foto 2.5 Almacenamiento de la droga seca 23
Foto 3.1 Estomas anomocíticos y Pelos unicelulares no glandulares (Sacha Zanahoria)..... 32
Foto 3.2 Pigmentación roja (Sacha Zanahoria)..... 32
Foto 3.3 Estomas anomocíticos y Pelos pluricelulares no glandulares (Ñachig).. 33
Foto 3.4 Pelos glandulares pluricelulares y Cuerpo aleurónico (Karipoleo) 33
Foto 3.5 Pelos unicelulares largos y Papilas fotosintéticas (Chullku)..... 34
Foto 3.6 Estomas diacíticos (Chullku) 34
Foto 3.7 Pelos pluricelulares no glandulares y Estomas diacíticos (Mortiño)..... 35
Foto 3.8 Pelos glandulares unicelulares y Estomas ciclocíticos (Sacha Anís) 35
Foto 3.9 Glándulas epiteliales y Tallo con lignina y suberina (Sacha Anís)..... 35
Foto 3.10 Pelos estrellados, simples secretores unicelulares y Estomas anisocíticos (Chilpalpal) 36



UNIVERSIDAD DE CUENCA

UNIVERSIDAD DE CUENCA



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

VALIDACIÓN DE LAS METÓDICAS APLICADAS A LOS PROCESOS DE SELECCIÓN, LAVADO, SECADO Y ALMACENAMIENTO PARA PLANTAS MEDICINALES A TRAVÉS DE APLICACIÓN DE TÉCNICAS OFICIALES BASADAS EN LA FARMACOPEA DE LA ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD

Tesis previa a la obtención del título de
Bioquímico Farmacéutico

AUTORES:

PAÚL ORLANDO GUILLEN MENA

GERMÁN ISMAEL SARMIENTO BERREZUETA

DIRECTOR:

DR. FABIÁN LEÓN TAMARIZ PH.D.

CUENCA-ECUADOR



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2011

INTRODUCCIÓN

Las plantas medicinales han sido utilizadas desde la antigüedad para el tratamiento, curación y prevención de diversas enfermedades, práctica que se ha ido incrementado con el paso de los tiempos por varias causas, principalmente se pueden citar la falta de accesibilidad a los medicamentos de última tecnología y a la pobreza de la población en los países en vías de desarrollo. (1) (2) (3) (4)

Debido a que su utilización en la elaboración de remedios caseros ha aumentado cada vez más a nivel mundial, las investigaciones sobre los componentes de diversas plantas medicinales, utilizadas desde la antigüedad para curar ciertos males que acechaban a la población también se ha incrementado. De esto también se beneficia la industria farmacéutica mediante su utilización para la elaboración de medicamentos, o como base para la síntesis de nuevas moléculas. (1) (2) (3) (4)

Los menores índices de reportes adversos o tóxicos que presenta el uso de la medicina natural a través de la fitoterapia, se debe a la presencia de uno o más principios activos en las plantas medicinales en concentraciones bajas en comparación a los encontrados en los productos sintéticos o elaborados; sin embargo, dichas plantas también pueden tener efectos no deseados en las personas que utilizan este tipo de medicina. La presencia de varios principios activos no caracterizados, así como la falta de conocimiento sobre su uso, son los principales causantes de los efectos no deseados o incluso tóxicos que pueden presentarse en las personas que los utilizan. (1) (2) (3) (4)

El incremento de su uso por parte de la población a nivel mundial, ha hecho que las industrias farmacéuticas se enfoquen en la comercialización de estos productos, lo que hace indispensable se establezcan legislaciones que controlen la calidad y la funcionalidad de dichos productos. Es importante analizar por ejemplo, la presencia de microorganismos y sus sustancias de desecho como toxinas; sustancias extrañas a la droga vegetal como polvo, cenizas, piedras; estructuras vegetales de una misma especie no especificadas dentro de las monografías existentes o la presencia de otra especie o variedad a la utilizada, entre otros. (1) (2) (3)

Para que se pueda desarrollar una investigación confiable, se necesita de métodos de preparación del material vegetal que cumpla con ciertos parámetros como por ejemplo los que impone la OMS, para obtener una materia prima de calidad. (6)

El presente trabajo está enfocado en la aplicación de algunos de estos parámetros para asegurar la calidad de las drogas vegetales, y así tener una base de datos con las plantas que se trabajó en esta tesis.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

JUSTIFICACIÓN

Aproximadamente el 65 – 80 % de la población en los países en vía de desarrollo como el Ecuador, usan plantas medicinales para preservar su salud. Cerca del 50% de los medicamentos modernos provienen de plantas medicinales ya sea como moléculas activas, como derivados de las moléculas activas o como base para la síntesis de productos basados en estructuras naturales. Si además consideramos que apenas un pequeño porcentaje de estas plantas han sido estudiadas, y que el Ecuador es un país biológicamente megadiverso (según Neil David el Ecuador tiene 15306 especies nativas de las cuales 4173 especies son endémicas- 568 en Azuay) el potencial de este campo es enorme y merece la atención científica de la Universidad Ecuatoriana. (1) (2) (3) (5)

En el proyecto VLIR de plantas medicinales se pretende establecer procedimientos estandarizados de selección, lavado, secado y almacenamiento de la materia prima vegetal con el fin de garantizar la obtención posterior de extractos vegetales de calidad.

La validación de las metódicas aplicadas a la droga vegetal referentes a su selección, lavado, secado y almacenamiento, brindará una mayor certeza sobre la seguridad y eficacia del producto final. Por estas razones es indispensable establecer normas o regulaciones sobre las drogas crudas basadas en procesos oficiales como los descritos por la OMS para el aseguramiento de la calidad de los posibles productos resultantes.



CAPITULO I

1 CONTROL DE CALIDAD

Para entender el control de calidad debemos tener en cuenta algunos conceptos:

Calidad: La Norma UNIT- ISO 8402 define calidad como la totalidad de las propiedades y de las características de un producto que le confieren su capacidad para satisfacer necesidades expresas o implícitas. (7)

Aseguramiento de la calidad: Son acciones que se toman para asegurar que el producto cumpla con los parámetros de calidad. El propósito del aseguramiento de la calidad es la prevención de posibles problemas que se pueden suscitar. (7) (8)

Control de Calidad: Son técnicas utilizadas para demostrar, si la materia con la que se está trabajando es de calidad. (7) (8)

Especificación: Es un documento donde se encuentra los requisitos, para asegurar una buena calidad. (7)

Droga Vegetal: Es la parte de la planta que contiene los principios activos y se utilizan en terapéutica. (9)

Planta Medicinal: Cualquier droga vegetal que contenga alguna sustancia con actividad farmacológica. (9) (10)

Principio Activo: Es una sustancia química responsable de la acción farmacológica y del uso terapéutico de una droga. (9)

Fitofármaco: Es todo fármaco que tiene una acción terapéutica elaborado a partir de una planta medicinal. (9)

Fitoterapia: Es la prevención y tratamiento de enfermedades utilizando plantas, drogas medicinales o algún preparado de éstas. (9)

Drogas Herbáceas: Son plantas o partes de plantas que han sido secadas o procesadas para la manufactura de preparados farmacéuticos. (11)

Se han distinguido dos tipos de drogas herbáceas dependiendo del estado en el que se encuentran para su utilización: (11)

- Drogas herbáceas frescas
- Drogas herbáceas secas dependiendo del estado en el que se encuentran para su utilización.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tés de Hiervas: Son drogas herbáceas preparadas por decocción, infusión o maceración. (11)

Preparados de Drogas Vegetales: Son drogas vegetales que han sido tratadas mediante extracción, destilación, expresión, fraccionamiento, purificación, concentración o fermentación. Estos pueden ser polvos, tinturas, extractos, aceites esenciales, aceites grasos, jugos, etc. (11)

Extractos de Plantas: Son preparaciones líquidas, semisólidas o sólidas que se obtienen a partir de drogas animales o vegetales que han estado en estado seco. (11)

Los extractos de plantas se clasifican en:

- Por su estado físico: Preparaciones líquidas (extractos líquidos, maceraciones aceitosas); preparaciones semisólidas (extractos blandos); extractos secos.
- Por su contenido: Pueden tener solo el extracto u otros que tiene excipientes adicionales.
- Por las sustancias activas que contienen.

Actividad Terapéutica: Se dice que una droga tiene actividad terapéutica cuando suministrada previene, diagnostica o trata enfermedades tanto físicas como mentales y desarrolla un estado de bienestar en todo el organismo. (10)

1.1 ADULTERACIÓN Y DETERIORO

La adulteración en la planta puede ser causada intencionalmente o puede ser accidental. En las drogas crudas la adulteración es dada por una sustitución de la droga ya sea de forma parcial o total con otras sustancias de calidad inferior; esto puede ser evitado con una selección cuidadosa de la materia vegetal con la cual se va a trabajar y la autenticación del mismo a través de su identificación en un Herbario indexado.

El deterioro puede ser causado por una infestación de microorganismos, y esto hace que la droga sea no apta para el consumo, esto se puede evitar mediante una buena selección, lavado, secado y sobre todo con buenas condiciones de almacenamiento. El deterioro de la calidad se debe principalmente a la destrucción o substracción de constituyentes por un mal tratamiento, envejecimiento o a escala comercial por la deliberada extracción de los componentes, y luego este residuo puesto a la venta. (4)



1.1.1 TIPOS DE ADULTERACIONES Y SUSTITUCIONES DE DROGAS HERBALES.

1.1.1.1 Sustitución con variedades comerciales inferiores: Este tipo de sustitución se debe principalmente al parecido morfológico que tienen las drogas herbales requeridas con otras variedades de menor calidad que puede o no tener acción química o terapéutica deseada. (4)

1.1.1.2 Adulteración con sustituyentes artificiales manufacturados: Se realiza artificialmente materiales con la forma y apariencia de la droga que se requiere y se sustituye por esta. (4)

1.1.1.3 Sustitución por drogas agotadas: Este tipo de adulteración se debe a la mezcla de la droga vegetal intacta adicionada con droga vegetal que ha sido previamente sometida a una extracción. Este tipo de adulteración se da principalmente con los aceites volátiles. (4)

1.1.1.4 Sustitución por sustancias naturales superficialmente similares pero más baratas: La droga vegetal se sustituye por otra droga que no tiene relación con la primera, estas puede tener o no la acción química o terapéutica deseada. (4)

1.1.1.5 Adulteración por adición de materiales pesados sin valor: Son sustancias que se adiciona a la droga vegetal para incrementar su peso. (4)

1.1.1.6 Adición de principios sintéticos: Se adiciona estos principios principalmente para mejorar la calidad de drogas inferiores. (4)

1.1.1.7 El uso de la materia vegetativa de la misma planta: La droga vegetal se mezcla con otras partes de la misma planta que tiene menor concentración de principios activos o que no tiene. (4)

1.1.2 DETERIORO DE LA DROGA VEGETAL

Se diferencian dos tipos de factores:

1.1.2.1 Factores primarios:

Estos factores son principalmente medioambientales. El deterioro puede ser producido por un factor o más comúnmente por una mezcla de estos factores. (4)

Estos factores pueden ser:

- **Luz:** Es la principal causa de deterioro de drogas vegetales que contienen glucósidos y santoninas, ya que estos compuestos químicos son fotosensibles; la OMS ha especificado las drogas vegetales de ciertas plantas que deben ser guardadas de la luz solar; estas deben



UNIVERSIDAD DE CUENCA

estar contenidas en un recipiente que no penetre la luz y ser almacenadas en lugares oscuros. (4)

- **Humedad:** La excesiva humedad en la materia vegetal va a activar enzimas que van a dar como resultado el deterioro de dicho material vegetal. Un correcto secado que reduzca los niveles de humedad residual a valores entre 10-12% es fundamental. La principal causa del aumento de la humedad en la materia vegetal es una excesiva humedad atmosférica; para evitar este factor es importante colocar la droga vegetal luego de haber sido secada, en contenedores que repelen dicha humedad, como es el caso de fundas de papel, sacos de yute o cajas de cartón. (4)
- **Temperatura:** Se debe tomar en cuenta la temperatura de almacenamiento de la droga, ya que al exceder los 45°C, pueden originar metabolitos secundarios perjudiciales debido a cambios enzimáticos. (4)
- **Oxidación aérea:** Esta se produce por el contacto de la materia vegetal; principalmente con aceites volátiles con terpenoides, con el oxígeno del aire. Todo esto va a producir una rancidificación de los aceites. (4)

1.1.2.2 Factores secundarios:

Estos se refieren a microorganismos que se pueden desarrollar en la materia vegetal o afectar a está mecánicamente. (4)

- **Bacterias y mohos:** Las plantas secas son contaminadas principalmente por esporas de bacterias y mohos presentes en el aire. Con un almacenamiento idóneo de este material vegetal va a disminuir considerablemente la posibilidad de contaminación por dichas esporas. La identificación de las especies tanto de mohos como de bacterias comúnmente no es necesario para saber el grado de contaminación de la muestra. (4)
- **Huevos de gusanos y nematodos:** Estos pueden estar presentes en la droga vegetal ya almacenada, estos huevos se los puede ver de forma macroscópica. (4)
- **Insectos/polillas:** Los insectos especialmente polillas en su etapa larval pueden ser causa de deterioro de la droga seca almacenada. (4)
- **Escarabajos:** Estos coleópteros causan daño mecánico al ingerir el material vegetal. (4)

Estos factores además de otros propios de la planta como son ciertos procesos enzimáticos contribuyen a la destrucción de los principios activos causando una alteración en la droga vegetal y así una mala calidad de los extractos obtenidos de las mismas. (8)



1.2 CONTROL DE CALIDAD DE PLANTAS MEDICINALES

El control de calidad es un proceso que implica el estudio físico-químico de la droga cruda que va desde la selección, manejo de la materia vegetal hasta la seguridad, eficacia y estabilidad del producto terminado. (12)

La Calidad es un requisito primordial aplicado a varios productos utilizados en la vida cotidiana de las personas, pero su importancia crece cuando se trata de medicamentos y en especial si estos son provenientes de plantas medicinales, ya que pueden contener uno o más principios activos responsables del efecto terapéutico lo que además dificulta la aplicación de métodos de control de calidad. (8) (13)

El uso de los fitofármacos al igual que el uso de plantas medicinales está en aumento, por lo cual debemos tener muy presente la calidad de las plantas que sirven como materia prima para la obtención del fitofármaco o para la obtención de extractos a escala industrial. El control de calidad de la materia vegetal es un aspecto de mucha importancia pues nos garantizara su identidad, inocuidad, pureza, contenido de principios activos, así como también su efectividad y estabilidad. (13) (14) (15)

El control de calidad se realiza bajo parámetros previamente establecidos mediante pruebas analíticas y biológicas y deben estar reguladas por organismos competentes. Para que las plantas sujetas al proceso de control estén dentro de los parámetros (límites), se requiere del cumplimiento de procedimientos de Buenas prácticas de Agricultura desde el sembrado hasta la cosecha de la misma. Además para el fitofármaco se requiere de buenas prácticas de fabricación y un proceso de fabricación validado. La aplicación de estas especificaciones nos da un criterio de aprobación o rechazo, ya sea de la materia prima o del producto terminado. (3)

Es por esto que en el proyecto "VLIR" de Plantas Medicinales de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca requiere realizar ciertas pruebas que nos permitan mantener un control de calidad de la materia vegetal con la que se va a trabajar y obtener los extractos, y de esta manera, garantizar la seguridad y calidad de los extractos obtenidos en el laboratorio del proyecto. La Organización Mundial de la Salud (OMS), tienen desarrollado una guía de pruebas que se deben realizar para el control de calidad de la materia vegetal, en la cual nos basamos para la realización de nuestra tesis y crear así una base de datos con los resultados obtenidos de las plantas trabajadas durante este proyecto.



1.2.1 ESTÁNDARES DE CALIDAD DE LOS PRODUCTOS A BASE DE HIERBAS.

Estos estándares tienen un grado de complejidad debido a la propia naturaleza de los ingredientes, ya que estos son mezclas de metabolitos secundarios y casi siempre su actividad no está bien estudiada. (4)

Debemos tener en consideración para el control de calidad de ciertos parámetros como:

- **Normas Estructurales:** La droga vegetal no debe contener ninguna otra droga que no esté especificada. (4)
- **Normas Analíticas:** Esto hace relación con los constituyentes de las drogas herbáceas e incluye las sustancias químicas, contenido de minerales, entre otras. (4)
- **Normas relacionadas con constantes físicas:** Tiene relación con las propiedades como densidad, índice de refractario, viscosidad, entre otras. (4)

1.2.2 FACTORES RELACIONADOS A LA CALIDAD DE LAS DROGAS HERBALES.

Entre los factores más importantes tenemos:

- La autenticación y la reproducibilidad de los ingredientes a base de hierbas: Los ingredientes que pueden tener un compuesto de drogas herbáceas pueden ser identificadas macroscópica y microscópicamente. (4)
- Variación de especies: Esto puede ser causado principalmente por factores genéticos, que dan como resultado una nueva especie. (4)
- Los factores ambientales: Principalmente tenemos: Clima, altitud, lluvia, ente otras que son las responsables del crecimiento de la materia vegetal. (4)
- Partes de las plantas utilizadas: Los principios activos pueden estar contenidas solamente en una parte de la planta, y no en las demás partes. (4)
- Momento de la cosecha: Se debe conocer el momento de la cosecha más idónea para cada planta, se debe cosechar el momento en el que la planta tenga la mayor cantidad de principios activos. (4)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- Factores post cosecha: Se debe tener precaución con los tratamientos post cosecha que se van a realizar con las plantas ya que por ejemplo un almacenamiento inadecuado puede resultar en una contaminación microbiológica o pérdida de ciertos principios activos. (4)
- Pesticidas, y otros metales tóxicos: Como las plantas pueden crecer en cultivos o cerca de estos, y pueden estar contaminadas con estas sustancias. Se requiere realizar estudios para la determinación de estos contaminantes. (4)

1.2.3 PARÁMETROS PARA ASEGURAR LA CALIDAD DE PLANTAS MEDICINALES

Las especificaciones para plantas según la OMS son:

- 1.2.3.1 Caracterización botánica:** Se refiere a que se debe estar seguro de la planta con la que se está trabajando, es decir conocer la especie, género y la variedad correcta de la planta a investigar, así como las partes de la planta con la que se va a trabajar. (3)

Dentro de esta caracterización se debe tomar muy en cuenta las características tanto macroscópicas y microscópicas. Todo esto nos sirve para saber si estamos trabajando con la planta y las partes de la planta adecuadas; además nos sirve para ver si hay sustitución o adulteraciones con otras plantas. (3)

- 1.2.3.2 Caracterización fitoquímica:** Se debe tratar de conocer todos los constituyentes especialmente los de acción terapéutica de la planta. (3)

- 1.2.3.3 Impurezas:** Las plantas con las que se va a trabajar, para obtener un producto final de calidad, no deben tener impurezas, como son los contaminantes, en los que están incluidos los metales pesados, pesticidas, mico toxinas, y contaminación microbiana. (3)

Otro tipo de impurezas son los productos de degradación, especialmente de los componentes propios de la planta que pueden llegar a ser tóxicos. (3)

Estos criterios de aceptación o rechazo de la materia prima se obtienen de un patrón de referencia, previamente analizada, con las mismas técnicas con las que se va a proceder con la materia prima o muestra problema. (3)

Este patrón de referencia debe ser una planta o parte de la planta del mismo género y especie que de la planta problema. (3)

Las especificaciones son el conjunto de pruebas que se van a realizar sobre una planta o parte de la planta problema, estos tienen límites numéricos para poder aprobar o rechazar dicha muestra. (3)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Si se rechaza la muestra problema, todas las plantas recolectadas de la misma zona se rechazan junto con ella. (3)

Las siguientes especificaciones son aplicables para todas las plantas: (3)

- Se debe anotar, la parte de la planta con la que se va a trabajar, es decir, la parte de la planta que contiene los principios activos; se debe anotar además como se va a trabajar con la planta (polvo, seca, fresco, tritura, infusión, aceites esenciales, etc). Debemos también conocer de qué lugar geográfico se obtuvo la planta y en qué condiciones se desarrollan mejor estas plantas.
- Se debe anotar las características organolépticas, así como también las características microscópicas.
- Debemos identificar que sea la planta con la que nosotros queremos trabajar, para esto se realizan las siguientes pruebas: Características macroscópicas y microscópicas; cromatografía, y por ultimo hacer reacciones químicas que son específicas para cada planta.
- Realizar pruebas como: Materia extraña, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido clorhídrico, extracto soluble en agua, materia extraíble, pérdida por calentamiento, metales pesados, límites microbiológicos, pesticidas, micotoxinas.

1.2.3.4 Criterio de aceptación.

Resulta de una comparación entre resultados del patrón con la muestra problema, y son límites que tienen cada método que se va a desarrollar. (3)

La calidad viene mejorando según va evolucionando las tecnologías, desde antes ya nuestros antepasados, especialmente en la agricultura, querían sacar al consumidor un mejor producto, es decir un producto de calidad. Hoy en día, el avance de la tecnología no solamente va encaminado a obtener mayor cantidad de productos, sino también a mejorar la calidad de estos.

1.3 PROCESAMIENTO DE LAS DROGAS VEGETALES

1.3.1 RECOLECCIÓN

Existen una gran cantidad de plantas medicinales disponibles para su recolección, pero para ello es muy importante conocer la época adecuada para ser recolectada, la misma que se define mediante la determinación de sus principios activos, la cual se realizará cuando estos se encuentren en su máxima concentración. (14)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Existen 2 tipos de plantas que pueden ser recolectadas: Nativas y Cultivadas. (9)
(14)

- **Nativas:** Son aquellas plantas que crecen naturalmente sin haber sido sembradas ni alteradas genéticamente. Los problemas que se pueden presentar con la recolección de estas plantas son: (14)
 - Posible mezcla o falsificación con otra planta de la misma especie. (9)
(14)
 - Destrucción del lugar o de otras especies de plantas durante la recolección. (9) (14)
 - Posible extinción de ciertas especies. (9) (14)
 - La baja producción de la droga. (9)
 - Tienen un crecimiento irregular. (9)
 - La gran dispersión geográfica. (9)
 - La concentración de principios activos es variable. (9)
 - La recolección demanda de personal calificado para la identificación, recolección y el transporte. (9)

Por estas razones, la recolección de plantas nativas solamente debe darse si se trata de plantas que tenga poca demanda en el mercado y que no sean especies que se encuentren en peligro de extinción. (9) (14) (16)

- **Cultivadas:** Son plantas que crecen en lugares destinados para las mismas, mejorando las condiciones para su crecimiento como es el uso de abonos, químicos, modificaciones genéticas, entre otros. Esto nos permitirá obtener plantas con mayor cantidad de principios activos lo que mejorara su efectividad y permitirá la recolección de grandes cantidades de materia prima para uso industrial. (14)

Este tipo de plantas tiene una ventaja sobre las plantas nativas, que es la cantidad y calidad de principios activos que contienen. (9) (14)

Otras ventajas que tienen las plantas cultivadas sobre las silvestres son:

- Todas las plantas que se van a recolectar están en un mismo estadio de crecimiento. (9)
- La recolección se va a realizar solo de una zona determinada. (9)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- Va a reducir en gran medida las adulteraciones y falsificaciones por otras especies de plantas similares. (9)

Las razones por las cuales se recomienda el cultivo de plantas medicinales según Sharapin (15) son:

- Existencia de pocas plantas nativas
- Difícil acceso al lugar de recolección
- Su distribución es muy dispersa
- Permite un procesamiento más rápido de la planta
- Alta demanda en el mercado
- Permite obtener una mejor calidad de planta y de sus principios activos

El tipo de recolección va a depender principalmente de las características de la especie a recolectar y son manuales y mecánicas. (9)

En la recolección manual es mucho más selectiva que la mecanizada, pero es más laboriosa y cara que la mecánica. (9)

Para la recolección debemos tener en cuenta las siguientes características:

- La edad de la especie. (9)
- El estadio del vegetal. (9)
- La época del año. (9)
- Momento del día de la recolección. (9)

Todas estas características van a afectar a la concentración de principios activos presentes en la planta o en la droga vegetal. (9)

1.3.2 PROCESOS POST COSECHA

Si realizamos correctamente los procesos post cosecha aseguramos una correcta conservación de la materia vegetal, estos procesos son:

- 1.3.2.1 SELECCIÓN:** En este paso se realiza la selección manual de la planta o partes de la planta que se va a utilizar, se seleccionara aquellas partes que no presenten ningún tipo de contaminación ya sea por insectos o microorganismos, y además que no se encuentren manchadas ni deterioradas.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

1.3.2.2 LAVADO: Consiste en la aplicación de agua potable para remover todo tipo de partículas de tierra, polvo o cualquier material extraño que se encuentre en la superficie de la planta, y luego se deja 10 minutos inmersos en agua destilada para eliminar cualquier tipo de sales que se encuentren presentes en la materia vegetal.

1.3.2.3 SECADO: Este proceso nos permite una buena conservación de la planta, ya que interrumpe los procesos de degradación enzimática, las reacciones de oxidación e hidrólisis y el desarrollo de microorganismos. El secado puede ser natural colocando la planta sobre un estante permitiendo la entrada de aire, y de forma artificial mediante el uso de una estufa a temperatura constante lo cual garantiza un secado uniforme de toda la planta. En este proceso se disminuye el contenido de humedad de la planta a 0,5% - 12%. Se debe tener precaución al momento de realizar un secado artificial ya que podría darse una pérdida de aceites volátiles de ciertas plantas y la degradación de ciertas sustancias termolábiles. La temperatura de secado de las plantas puede variar entre 30°C y 60°C, pero aquellas plantas que poseen aceites esenciales u otras sustancias volátiles tienen que ser secadas a una temperatura menor a los 40°C. Por esta razón se debe determinar experimentalmente un tipo de secado para cada planta ya que al darse un secado natural o lento se va a producir alteraciones causadas por hongos, bacterias y enzimas. Mientras que al darse un secado artificial o rápido va a ocasionar el endurecimiento de la superficie de la planta o de las partes de la planta utilizada e impedirá la evaporación del agua lo que traerá como consecuencia la acción enzimática causando la pérdida de aceites volátiles alterando la presencia del producto. (13) (14) (16) (17)

1.3.2.4 ALMACENAMIENTO: Esto va a depender exclusivamente de las características de la especie a almacenar. Generalmente se va a almacenar en lugares frescos y secos. Para que exista una buena conservación del material vegetal, es necesario almacenar en un lugar en la que no exista contacto con el sol, polvo, roedores, insectos que puedan causar alteraciones de planta, aunque durante el almacenamiento de la planta exista una pérdida de principios activos, esta será mayor si no se tiene los cuidados apropiados. (9) (16) (17)

1.4 PLANTAS MEDICINALES UTILIZADAS PARA ESTE TRABAJO

1.4.1 Sacha Zanahoria

Familia: Apiaceae.

Nombre científico: *Arracacia elata* Wolff.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: Se usa para tratar afecciones del hígado y de los riñones. (18)

Descripción botánica: Es una hierba que mide más de 1 metro de altura, posee hojas alternas que pueden llegar a medir hasta 30 centímetros de largo, son de color verde y por la cara interna es un poco más pálido; los bordes son aserrados y partidos. (19)

Los tallos son teñidos de un color café rojizo y posee muchas ramificaciones. (19)

La inflorescencia es en forma de sombrilla y posee muchas flores pequeñas de color verde amarillento. (19)

1.4.2 Ñachig

Familia: Asteraceae.

Nombre científico: *Bidens andicola* Kunth.

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: La flor en infusión se utiliza para tratar el exceso de flujo vaginal, para el colerín, como tranquilizante y para problemas de hígado especialmente cuando se tiene ictericia. (18) (20)

La infusión de las hojas sirve para calmar el dolor de estómago. (18)

Se coloca las hojas machacadas en escaldaduras en piernas y brazos de niños. (18) (20)

La infusión de hojas y flores sirven para tratar la ictericia, enfermedades en los riñones y aliviar desórdenes nerviosos. (18)

Toda la planta machacada y utilizada tópicamente sirve para tratar granos en la piel, golpes y contusiones. También toda la planta en infusión se usa para tratar el resfrío, la ictericia y afecciones biliares. (18) (21)

Se usa la savia como refrescante después de haber estado al sol largo tiempo y sentirse decaído (refrescante, tónico). (18) (21)

Se utiliza para sacar el ombligo en los recién nacidos y para facilitar el parto. (20)

Descripción botánica: Es una hierba de hasta 30 centímetros de alto. Tiene hojas simples, opuestas y con borde dentado. (20)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Las flores se ubican en la parte superior de la planta y posee 8 pétalos de color amarillo. (20)

1.4.3 Karipoleo

Familia: Lamiaceae.

Nombre científico: *Minthostachys mollis* Kunth.

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: Las hojas sirve para tratar la congestión nasal, asma, bronquitis, ronquera, catarro y tos. En colada estas tratan la pulmonía. (18) (21)

La infusión es un estimulante estomacal, y favorece el flujo menstrual; trata también mareos y jaquecas. (18) (21) (22) (23) (24)

Sirve para curar el mal aire y la influenza al frotar la planta sobre la piel. (21)

Descripción botánica: Planta aromática de 0,9 a 1,5 metros de altura, con muchas hojas pecioladas opuestas y aserradas, presentando pelos en el peciolo y en la cara inferior de esta. (22) (23) (24)

El tallo es ramificado de forma prismática (cuadrangular) con presencia de pelos y con tendencia a la lignificación. (22) (23) (24)

Las flores se encuentran en la parte superior de las ramas reunidas en verticilios. Son pequeñas, irregulares y de color blanco. Se encuentran reunidas en pseudo verticilios axilares, formados por cuatro pequeñas cimas, dos en cada axila. (22)

El cáliz y la corola son pentámeros, con un androceo y cuatro estambres. (24)

1.4.4 Chullku

Familia: Oxalidaceae.

Nombre científico: *Oxalis peduncularis* Kunth.

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: Es refringente por el contenido de ácido oxálico y se utiliza para tratar la “inflamación de calor” y la tos. (18) (25)

Para tratar afecciones hepáticas, se procede moliendo los tallos y las hojas y luego filtrar para su posterior consumo. (26)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Se dice que también sirve para infecciones oftálmicas, al partir el tallo y dejando caer una gota sobre el ojo afectado. (26)

En algunas regiones la utilizan contra la caries y para la inflamación de las amígdalas. (20)

Descripción botánica: Presenta tallos carnosos o suculentos, las hojas tienen forma de corazón cubierta de pelitos blancos y se encuentran comúnmente de tres en tres sobre la cima del peciolo carnoso. (20)

Posee inflorescencia axilar, en racimos, con 5 pétalos amarillos. (20)

1.4.5 Mortiño

Familia: Solanaceae.

Nombre científico: *Solanum nigrescens* M.Martens & Galeotti.

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: La infusión de las plantas sirve para tratar el paludismo, alergias y el “chuchaqui”; además es un purgante. La planta machacada y de uso tópico sirve para tratar golpes y macerada es colocada en la frente combate los síntomas de la sinusitis. (18) (25)

El fruto molido y mezclado con agua sirve para tratar el dolor de cabeza y como antiparasitario intestinal. El fruto macerado se aplica en heridas como agente cicatrizante. (18)

La infusión de la flor sirve para tratar el dolor de riñones, resfrío, inflamación estomacal, diarrea y aliviar los síntomas de la gripe. (18)

Las semillas maceradas se usan para tratar granos y vientres inflamados. (18)

La infusión de hojas y frutos se utiliza para aliviar la gripe y bronquitis. (18) (25)

Descripción botánica: Es una planta herbácea de 0,5 a 2 metros de alto, las hojas pecioladas pueden ser solitarias o estar en pares con borde sinuado dentado; estas hojas son lanceoladas con ápice agudo, estas no contienen pelos. (27) (28)

Tiene un tallo principal del cual se ramifican los tallos secundarios glabrosos. (27)

Posee inflorescencia lateral e intermodal con pocas flores raciformes. La corola puede ser blanca o lila con manchas oscuras en la base. (27) (28)

El fruto es globoso de color verde que se vuelve negro al madurar. (27)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

La raíz es axonomorfa de color blanquecino. (28)

1.4.6 Sacha Anís

Familia: Asteraceae.

Nombre científico: *Tagetes filifolia* Lag.

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: Posee propiedades carminativas, estomacales y tónicas. (21) (25)

Sirve para tratar la “inflamación de frío” (enfriamiento brusco del cuerpo) y el dolor de estómago. (18) (21)

En infusión se usa para tratar resfríos, cólicos, gases y problemas de digestión. (18) (21)

Descripción botánica: Es una hierba de 10 a 15 centímetros de alto que contiene aceites esenciales. (29)

Las hojas son simples, opuestas, pinnatisectas y con segmentos filiformes. (29)

Las inflorescencias se presenta en capítulos solitarios; las flores son liguladas con corola blanca y elíptica; las flores también pueden ser centrales con corola amarilla, posee estambres alternos a los lóbulos de la corola. (29)

El fruto es un aquenio con una sola semilla. (29)

1.4.7 Chilpalpal

Familia: Valerianaceae.

Nombre científico: *Valeriana tomentosa* Kunth.

Hábito: Hierba terrestre. (18)

Propiedades etnomédicas: El zumo de la flor con las hojas se usan para tratar úlceras, erupciones e infecciones de la piel. La raíz es antiespasmódica. La infusión alivia la gastritis. (18)



CAPITULO II

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 MUESTRAS VEGETALES

Las muestras con las que se trabajo fueron plantas medicinales seleccionadas de manera aleatoria, se seleccionó 7 especies de plantas diferentes, las mismas que fueron recolectadas en 5 lugares distintos cada una, tomando las coordenadas de localización de cada uno de los lugares. Las plantas medicinales seleccionadas se indican en las siguientes tablas:

Tabla 2.1: Lugares de Recolección de Sacha Zanahoria (*Arracacia elata*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
San Bartolomé	2793m	9667379	17- 739406		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Yullin	2843m			02°42'44,5"	078°54'44,0"
San Gabriel	2775m	9673740	17-742558		
Chica Despensa	3346m			02°38'59,4"	078°57'25,2"

Tabla 2.2: Lugares de Recolección del Ñachig (*Bidens andicola*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
San Bartolomé	2793m	9667379	17- 739406		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Zharban (Gualaceo)	2642m	9682598	17- 751407		
Yullin	2843m			02°42'44,5"	078°54'44,0"
Chica Despensa (Burgay)	3346m			02°38'59,4"	078°57'25,2"

Tabla 2.3: Lugares de Recolección del Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
San Bartolomé	2793m	9667379	17- 739406		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Callasay (Gualaceo)	2875m	9684619	17- 752958		
La Caldera (Ricaurte)	2626m			02°49'34,5"	078°58'12,1"
Sidcay	2620m			02°49'14,8"	078°57'25,8"



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 2.4: Lugares de Recolección del Chullku (*Oxalis peduncularis*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
Callazay	2875m	9684619	17-752958		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Capzha (Gualaceo)	2258m	9680322	17-747713		
La Caldera (Ricaurte)	2626m			02°49'34,5"	078°58'12,1"
Chica Despensa	3346m			02°38'59,4"	078°57'25,2"

Tabla 2.5: Lugares de Recolección del Mortiño (*Solanum nigrescens*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
San Bartolomé	2793m	9667379	17-739406		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Sidcay	2620m			02°49'14.8"	078°57'25.8"
La Caldera (Ricaurte)	2626m			02°49'34,5"	078°58'12,1"
Nieves (Gualaceo)	2249m	9679312	17-747583		

Tabla 2.6: Lugares de Recolección del Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
San Bartolomé	2793m	9667379	17-739406		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Sidcay	2620m			02°49'14.8"	078°57'25.8"
San Gabriel	2775m	9673740	17-742558		
Patamarca	2550m			02°51'17,5"	078°59'07,9"



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 2.7: Lugares de Recolección del Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*)

Lugar	Altitud	Norte	Este	Sur	Oeste
San Bartolomé	2793m	9667379	17- 739406		
San Roque (Nazón)	2734m			02°42'15,8"	078°54'23,2"
Callasay (Gualaceo)	2875m	9684619	17- 752958		
Checa	2767m			02°48'24,4"	078°59'28,2"
Chica Despensa	3346m			02°38'59,4"	078°57'25,2"

2.2 REACTIVOS

- ❖ Acido Clorhídrico 2N, (conseguido como Acido Clorhídrico fumante 37% adquirido a la Merck - Alemania).
- ❖ Hidróxido de Sodio 5% (conseguido como Hidróxido de Sodio 99% en lentejas adquirido a la Merck – Alemania).
- ❖ Agua de Peptona Universal al 0,1%. (Merck - Alemania)
- ❖ Plate Count agar (Merck – Alemania)
- ❖ Agar Sabouraud (Merck - Alemania)
- ❖ Caldo LST (Merck – Alemania)
- ❖ Gentamicina de una concentración de 40mg/ml de los laboratorios MK (Colombia).
- ❖ Alcohol etílico al 70%.

2.3 MÉTODOS

2.3.1. SELECCIÓN DE LAS PLANTAS

Se escogió aleatoriamente 7 especies distintas de plantas herbáceas nativas del Austro Ecuatoriano que se encuentran en la lista que tiene el proyecto VLIR de plantas medicinales de la Escuela de Bioquímica y Farmacia, cada especie de planta fue escogida en 5 distintos lugares.



2.3.2. RECOLECCIÓN

En cada lugar escogido para la recolección se aplicó el mismo procedimiento que fue: Una vez identificada la especie de la planta que se recolectaría, se procedió a obtener manualmente una cantidad representativa de la planta y/o plantas (aproximadamente 100-200g) para luego colocarlas en fundas de papel y ser transportadas lo más rápidamente al laboratorio de procesamiento de plantas medicinales. Se dejaba la y/o las plantas recolectadas esparcidas en un estante para su posterior selección y lavado en caso que este procedimiento no se realice el mismo día de la recolección como se muestra en la foto 2.1. Cada funda de papel que transportaba la planta estaba etiquetada con el nombre de la planta, fecha y lugar de recolección.



Foto 2.1 Plantas esparcidas para su posterior procesamiento

2.3.3. SELECCIÓN

Se seleccionó las hojas que no presenten ningún tipo de alteración ya sea por insectos, microorganismos, que no estén manchadas ni deterioradas. (Foto 2.2)

2.3.4. LAVADO

Una vez seleccionadas las hojas se lava con agua potable para remover cualquier residuo de tierra, polvo u otras sustancias que se encuentren en la superficie de las mismas, este proceso se realiza varias veces hasta que no exista residuo de tierra o polvo, luego se escurre la droga vegetal y se coloca en una canasta con agua destilada obtenida del destilador Fanem TAP 30979 (Sao Paulo – Brasil) por 10 minutos. Luego se procede a colocar la droga vegetal en unas rejillas de acero inoxidable con bordes de madera previamente sanitizada con alcohol 70% sobre papel periódico sin impresión y se la coloca en un estante para que se seque al ambiente por 24 horas. (Foto 2.3)



2.3.5. SECADO

Una vez transcurridas las 24 horas de secado al ambiente, se procede a colocar la planta en las rejillas de la estufa Pro 3 (Cuenca-Ecuador) previamente sanitizadas con alcohol 70% en papel periódico sin impresión y se coloca en la estufa de secado a $37 \pm 1^\circ\text{C}$ por 24-48 horas hasta alcanzar peso constante. La planta *Oxalis peduncularis* (Chullku) es la que mayor período de secado requirió (48 horas). (Foto 2.4)



Foto 2.2 Selección de las hojas

Foto 2.3 Secado al ambiente



Foto 2.4 Estufa de secado Pro3



2.3.6 ALMACENAMIENTO

En el proyecto VLIR almacenamos la materia vegetal en fundas de papel, se introduce la droga en 2 fundas para una mejor protección y estas son colocadas en estantes limpios libres de contacto con polvo, animales u otros factores causantes de alteraciones. En cada funda de papel se adhiere su respectiva etiqueta la cual identifica la planta que contiene, la fecha de recolección, el lugar del cual fue recolectada y el código de la planta. (Foto 2.5)



Foto 2.5 Almacenamiento de la droga seca

2.4 ANÁLISIS FÍSICO – QUÍMICO

2.4.1 EXAMINACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA:

2.4.1.1 Fundamento: Se basa en el reconocimiento de la droga vegetal a trabajar, es decir, que se trate de la misma especie y variedad de la planta que se esta investigando.

2.4.1.2 Examinación Macroscópica: Esta se basa en la determinación de la forma, tamaño, color, características superficiales, textura de la planta a analizar.

2.4.1.2.1 Procedimiento

Se toma la planta a trabajar y se examina a simple vista las características externas.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

2.4.1.3 Examinación Microscópica: Esta basada en la observación por medio de un microscopio de las distintas estructuras de la planta, que en nuestro proyecto se utilizó las hojas. Para esta prueba se emplearon hojas secas y hojas frescas para un mejor análisis de sus características estructurales.

2.4.1.3.1 Procedimiento

Con las hojas frescas, se realizó un corte horizontal y un corte vertical lo más fino posible en el haz y envés de las hojas, colocamos los pequeños cortes sobre un porta objetos y lo cubrimos con un cubre objetos, luego se procedió a observar en el microscopio Olympus (CX 21 - Filipinas) con las lentes de 10X y 40X, las distintas estructuras de cada planta.

Con las hojas secas, se realizó un método utilizando NaOH 5%, el cual es muy útil para la eliminación de fibras y tejidos de las hojas facilitando la observación de los estomas. Colocamos unas pocas hojas en un vaso de precipitación y añadimos alrededor de 5 mL del reactivo, hervimos por unos 5 minutos, eliminamos el NaOH sobrante y lavamos con un poco de agua, tomamos un poco de la muestra con un palillo y lo colocamos en un porta objetos, lo cubrimos con el cubre objetos y procedemos a la observación en el microscopio.

2.4.2 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

2.4.2.1 Fundamento: Se basa en la diferencia de pesos que se obtiene después de una calcinación de la droga vegetal.

La determinación de cenizas totales es un parámetro que nos indica alteración en la calidad de la droga cruda ya sea adulteración, contaminación o sustitución de la misma.

2.4.2.2 Procedimiento

Se enciende la mufla FR260 (HERAUS- Alemania) con 2 horas de anticipación a realizar la determinación hasta que alcance una temperatura entre 500-600°C. Se colocaron los crisoles numerados para cada planta por 15 minutos, luego se coloca el crisol en un desecador hasta que se enfríe. Se pesó el crisol en la balanza analítica BOECO BBL31 (Alemania), y se anotó el peso. Se colocan entre 2-4g de droga seca en cada crisol y se anota su peso exacto. Se llevó cada crisol a la mufla y se espera 1 hora. Después de la hora llevamos los crisoles en un biscocho y colocamos en un desecador hasta enfriamiento, procedemos a pesar cada uno de los crisoles anotando los pesos respectivos, se vuelve a colocar los crisoles en la mufla por 30 minutos



UNIVERSIDAD DE CUENCA

más y se vuelve a pesar, este procedimiento se repite hasta obtener un peso constante (que no difiera mas de 0,005g). El ensayo se realizo por duplicado.

Cálculos:

Peso de la muestra antes de la calcinación → PMAC

Peso de la muestra después de la calcinación → PMDC

Cenizas totales → CT

$$CT = \frac{PMDC \times 100}{PMAC}$$

2.4.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

2.4.3.1 Fundamento: Se basa en la diferencia de pesos que se obtiene después de una calcinación de la droga vegetal y la extracción con HCl.

2.4.3.2 Procedimiento

Una vez obtenido el peso constante de las cenizas totales, colocamos 25 mL de ácido clorhídrico 2N (Merck - Alemania) en cada crisol y se hierve por 5 minutos, este procedimiento se realiza en una cámara de extracción de aire para evitar la contaminación del ambiente con los vapores emitidos por el HCl. Se coloca en el soporte de hierro los anillos y los embudos, colocamos el papel filtro libre de ceniza (Whatman 41 - Alemania) en el embudo y vertimos el contenido del crisol en el embudo con el papel filtro, este procedimiento se realiza con cada crisol de cada planta. Lavamos con agua caliente el papel filtro que contiene las cenizas insolubles hasta que el filtrado sea neutral. Colocamos el papel filtro doblado que contiene las cenizas insolubles nuevamente en el crisol y los llevamos nuevamente a la mufla a una temperatura de 800°C hasta peso constante, que en nuestra práctica se obtuvo en una hora de incineración en la mufla. Luego de la hora sacamos los crisoles de la mufla, los colocamos en un biscocho y los llevamos al desecador hasta enfriamiento, procedemos a pesar cada uno de los crisoles anotando los valores obtenidos y se realiza los cálculos. El ensayo se realizo por duplicado.

Cálculos:



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Peso de la muestra antes de la calcinación → PMAC

Peso de la muestra después de la calcinación con HCl → PMDCHCl

Cenizas insolubles en HCl totales → CIHCIT

$$CIHCIT = \frac{PMDCHCl \times 100}{PMAC}$$

2.4.4 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

2.4.4.1 Fundamento: Se basa en la diferencia de pesos que se obtiene después de calentar la muestra en una estufa de 100-105°C.

La presencia de agua facilita el rápido crecimiento de microorganismos, hongos que causan deterioro de la planta y contaminación por las sustancias liberadas por estos microorganismos.

2.4.4.2 Procedimiento

Colocamos las Cápsulas de porcelana previamente numeradas para cada planta en las estufa MEMMERT (Alemania) a 100-105°C por 15 minutos, las colocamos en el desecador hasta enfriamiento, pesamos cada una de las cápsulas anotando el valor de las mismas. Pesamos en la balanza analítica entre 2-5g de droga seca, anotamos el valor respectivo y colocamos en la estufa hasta que 2 pesos consecutivos no difieran en mas de 5mg, que en nuestra practica se coloco por 2 horas en la estufa después de pesar la planta y luego pesar cada 30 minutos hasta obtener pesos constantes. Se calcula la pérdida de peso en mg por g de droga seca. El ensayo se realizo por duplicado.

Cálculos:

Peso de la muestra antes de la desecación → PMAD

Peso de la muestra después de la desecación → PMDD

Humedad → H

$$H = \frac{PMDD \times 100}{PMAD}$$



2.4.5 DETERMINACIÓN MICROBIOLÓGICA

Estos tipos de pruebas nos sirven para determinar si la materia prima, ha estado expuesta a algún tipo de contaminación por parte de microorganismos en el lugar de almacenamiento.

2.4.5.1 DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS

2.4.5.1.1 Fundamento:

Este método se basa en el cultivo entre 22°C – 25°C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en vertido y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales. (Agar Sabouraud).

2.4.5.1.2 Procedimiento

Pesamos en la balanza analítica 10g de droga seca y colocamos en un vaso de vidrio que contiene 90 mL de Agua de Peptona 0,1% y un surfactante Polisorbato 80 (10mg/1mL) (Tween 80, Human - Alemania) previamente esterilizado, agitamos bien (Dilución 1:10) y en una cámara de seguridad biológica LABCONCO Modelo Clase II (EEUU), se procedió a realizar las diluciones tomando 1mL de la dilución 1:10 y añadiendo a un tubo tapa rosca que contiene 9mL de Agua de Peptona (Dilución 1:100), de esta dilución tomamos 1mL y colocamos en otro tubo tapa rosca con 9mL de Agua de Peptona (Dilución 1:1000).

Una vez que tenemos realizadas las diluciones vertimos 1mL de cada una de las diluciones en las cajas petri, añadimos 15-20mL del Agar Sabouraud fundido con el antibiótico Gentamicina (40mg/1L), esterilizado en la autoclave TUTTNAUER 2340 MK(Israel) y temperado a 50°C en cada caja, homogenizamos bien para que se distribuya la muestra en todo el agar, incubamos en una estufa NEW LINE 100A (Ecuador) entre 20-25°C durante 5 días. Luego se procede a realizar el conteo de colonias. El procedimiento se realizó por duplicado.

2.4.5.2 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

2.4.5.2.1 Fundamento:

Para la determinación se usa la técnica del número más probable (NMP), la cual proporciona una estimación de los organismos viables existentes en un sustrato. Este es un concepto estadístico derivado de la teoría de las probabilidades aplicable a la enumeración de microorganismos bajo condiciones como:



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- Los microorganismos se distribuyen de modo homogéneo y al azar en el medio que los contiene.
- Las fracciones de muestra contendrán un número proporcional al total de la muestra.
- Las células se consideran como entidades independientes. El método perderá exactitud si se presentan agrupaciones celulares.
- En caso de que se encuentre una sola célula, el medio de cultivo empleado permitirá detectarla en función de su crecimiento.

2.4.5.2.2 Procedimiento

Pesamos 10g de droga seca y colocamos en un vaso de vidrio que contiene 90mL de Agua de Peptona 0,1% y un surfactante Polisorbato 80 (10mg/1mL) previamente esterilizado, agitamos bien (Dilución 1:10) y en una cámara de seguridad biológica se procedió a realizar las diluciones tomando 1mL de la dilución 1:10 y añadiendo a un tubo tapa rosca que contiene 9mL de Agua de Peptona (Dilución 1:100), de esta dilución tomamos 1mL y colocamos en otro tubo tapa rosca con 9mL de Agua de Peptona (Dilución 1:1000).

Una vez realizadas las diluciones, colocamos 1mL de cada una de las diluciones a tubos con 4mL de caldo Lisina, Soya, Trypticase (LST) con tubos Durham utilizando 3 tubos por cada dilución. Incubamos en una estufa a 37°C durante 48 horas, realizamos la lectura en este tiempo y anotamos los tubos que muestren turbidez en el medio y gas dentro del tubo Durham de cada una de las diluciones. Estos resultados leemos en tablas. El procedimiento se realizó por duplicado.

2.4.5.3 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS

2.4.5.3.1 Fundamento: El Recuento Estándar en placa (REP), de bacterias aerobias mesófilas es un método cuantitativo que se basa en el cálculo del número de microorganismos viables a partir de medios líquidos inoculados con diluciones decimales de las cuales se colocan alícuotas en cajas petri estériles y se vierte el medio sólido adecuado, fundido y temperado a 45°C e incubado a la temperatura deseada.

2.4.5.3.2 Procedimiento

Pesamos en la balanza analítica 10g de droga seca y colocamos en un vaso de vidrio que contiene 90mL de Agua de Peptona 0,1% y un surfactante Polisorbato 80 (10mg/1mL) previamente esterilizado, agitamos bien (Dilución 1:10) y en una cámara de seguridad biológica, se procedió a realizar las diluciones tomando 1mL de la dilución 1:10 y añadiendo a un tubo tapa rosca



UNIVERSIDAD DE CUENCA

que contiene 9mL de Agua de Peptona (Dilución 1:100), de esta dilución tomamos 1mL y colocamos en otro tubo tapa rosca con 9mL de Agua de Peptona (Dilución 1:1000).

Una vez que tenemos realizadas las diluciones vertimos 1mL de cada una de las diluciones en las cajas petri, añadimos 15-20mL del Agar Plate Count (PCA) fundido, esterilizado en la autoclave y temperado a 50°C en cada caja, homogenizamos bien para que se distribuya la muestra en todo el agar, incubamos en una estufa a 37°C durante 5 días. Luego se procede a realizar el conteo de colonias a las 48 horas y a los 5 días. El procedimiento se realizó por duplicado.



CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA

3.1.1 *Arracacia elata* (Sacha Zanahoria)

Es un arbusto carnoso de aproximadamente 1,5 – 2 m, con el tallo carnoso liso, las flores son pequeñas de color verde amarillentas y con inflorescencia terminal en umbela. Las hojas son compuestas, opuestas de forma pineada y borde dentado. El haz es de color verde oscuro y el envés color verde claro; mide 3 – 4 cm de ancho y 5 – 7 cm de largo. La base es aguda y sin pecíolo terminando en un ápice en punta, las nervaduras son opuestas.

3.1.2 *Bidens andicola* (Ñachig)

Es un arbusto semileñoso de aproximadamente 20 cm de alto, con un tallo de color verde claro, con flores amarillas, con inflorescencia terminal en capitulo o cabezuela, con 8 pétalos. Las hojas son opuestas, el haz es de color verde claro y el envés verde agua, el borde es dentado. Presenta ramificación simpodial, la base aguda con micro vellosidades, la hoja mide 2 mm de ancho y 1 cm de largo, el ápice termina en punta. La raíz es semileñosa simpodial, geotrópica y mide 3 a 4 cm de largo con crecimiento de micro raíces.

3.1.3 *Minthostachys mollis* (Karipoleo)

Es un arbusto leñoso de aproximadamente 1 a 1,5 m de alto, el tallo es color café verdoso, con micro vellosidades. Las flores son blancas con crecimiento entre las hojas. Las hojas son simples, opuestas, dentadas, con pecíolo, y terminan en ápice punteado. El haz es de color verde claro y el envés verde agua, miden de 2 a 3 cm de largo y 1 a 2 cm de ancho. Las hojas poseen nervadura alterna.

3.1.4 *Oxalis peduncularis* (Chullku)

Es un arbusto carnoso de 20 a 30 cm de alto, el tallo es verdoso liso. Las flores son de color amarillo con crecimiento al final de la planta, la corola es de color verde. Las hojas son compuestas alternas. El haz es de color verde claro y el envés verde agua. Tienen la forma de corazón, lisa, con borde liso y la base aguda. Posee pecíolo carnoso, mide de 1 a 2 cm de ancho y 2 a 3 cm de largo. La raíz es carnosa de 8 a 10 cm de largo, con crecimiento de microrraíces.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.1.5 *Solanum nigrescens* (Mortiño)

Es un arbusto leñoso de 1 a 1,5 m de alto. El tallo es de color verde con micro vellosidades. Las hojas son simples, alternas, el haz de color verde oscuro, y el envés de color verde claro. Son pecioladas con el ápice en punta, tiene nervadura opuesta, base aguda, lisa, y mide de 2 a 3 cm de ancho y 4 a 5 cm de largo con borde dentado. Los frutos son esféricos de aproximadamente 5 mm de diámetro de color verde que cuando maduran se vuelven negros. Las flores pueden ser de color blanco al lila.

3.1.6 *Tagetes filifolia* (Sacha Anís)

Es un arbusto leñoso de 20 a 30 cm de alto, con tallo de color café oscuro. Las flores son amarillas con corola cerrada con crecimiento final entre las hojas. Las hojas son opuestas, el haz y el envés son de color verde claro, con base recta y lisa, miden 2 cm de largo y 5 mm de ancho. La raíz es leñosa de 4 a 5 cm de largo.

3.1.7 *Valeriana tomentosa* (Chilpalpal)

Es un arbusto leñoso de aproximadamente 1,5 a 2 m de largo, el tallo es de color café y es liso. Las hojas son simples y opuestas, el haz es de color verde oscuro y el envés verde claro, es lanceolada, de 4 a 5 cm de largo por 2 cm de ancho, peciolada con ápice en punta.

Las plantas sujetas a estudio, según la caracterización macroscópica, corresponden al mismo género y especie que nos dicta la literatura empleada.
(18) (19) (20) (21) (22) (23) (24) (25) (26) (27) (28) (29)



3.2 CARACTERIZACIÓN MICROSCÓPICA

3.2.1 *Arracacia elata* (Sacha Zanahoria)

Se encontraron estomas anomocíticos, pelos unicelulares no glandulares, y una pigmentación roja posiblemente debida a la presencia de un antioxidante. (Fotos 3.1; 3.2)

Estomas anomocíticos

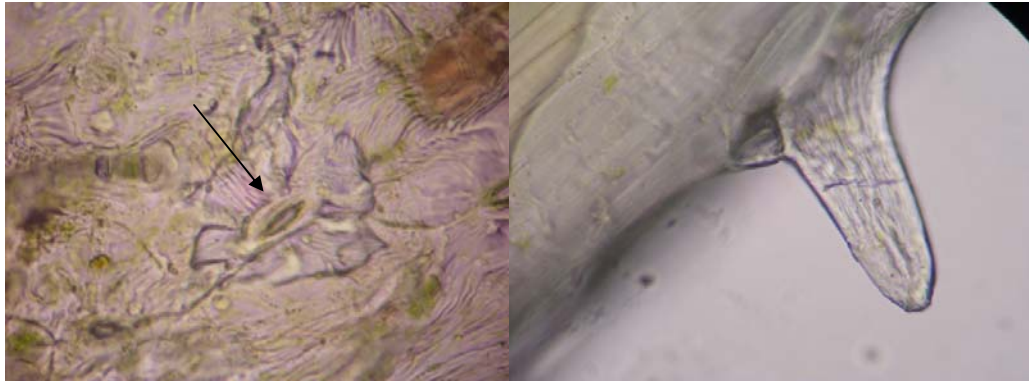


Foto 3.1: a) Estomas anomocíticos

b) Pelos unicelulares no glandulares

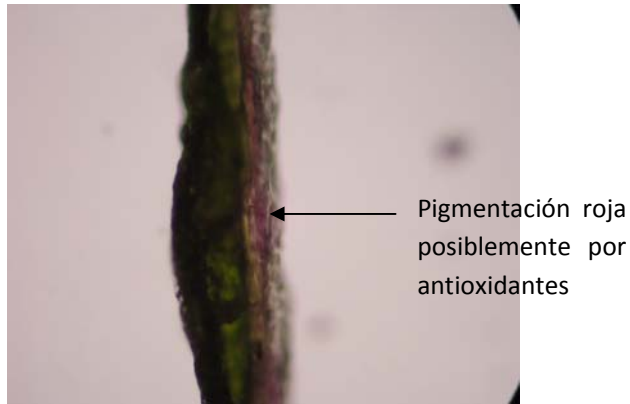


Foto 3.2 a) Pigmentación roja



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.2.2 *Bidens andicola* (Ñachig)

Se encontraron pelos pluricelulares no glandulares y estomas anomocíticos. (Foto 3.3)

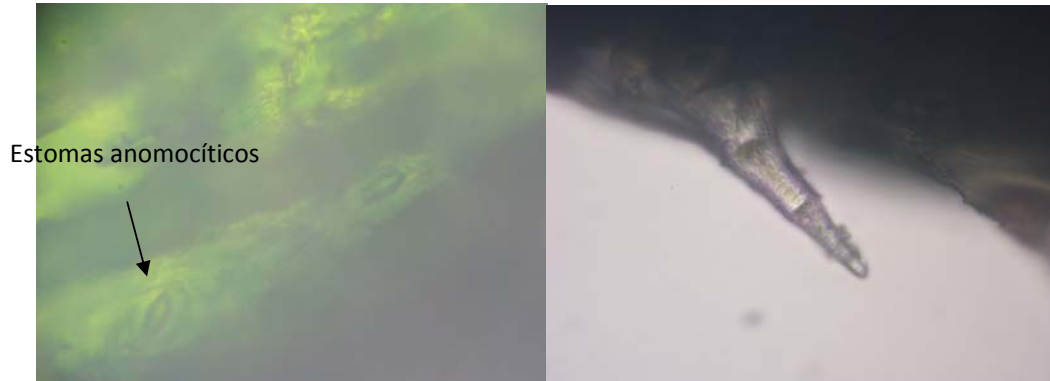


Foto 3.3:a) Estomas anomocíticos

b) Pelos pluricelulares no glandulares

3.2.3 *Minthostachys mollis* (Karipoleo)

Se encontraron pelos glandulares pluricelulares abundantes y cuerpos aleurónicos (Proteínas). (Fotos 3.4)

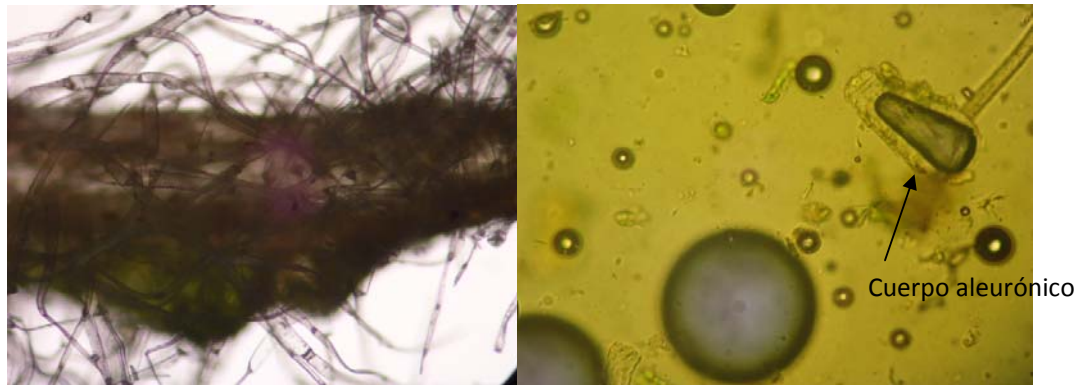


Foto 3.4a) Pelos glandulares pluricelulares

b) Cuerpo aleurónico



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.2.4 *Oxalis peduncularis*(Chullku)

Se encontraron pelos unicelulares largos con papilas fotosintéticas en su superficie y los estomas son diacíticos. (Fotos 3.5; 3.6)

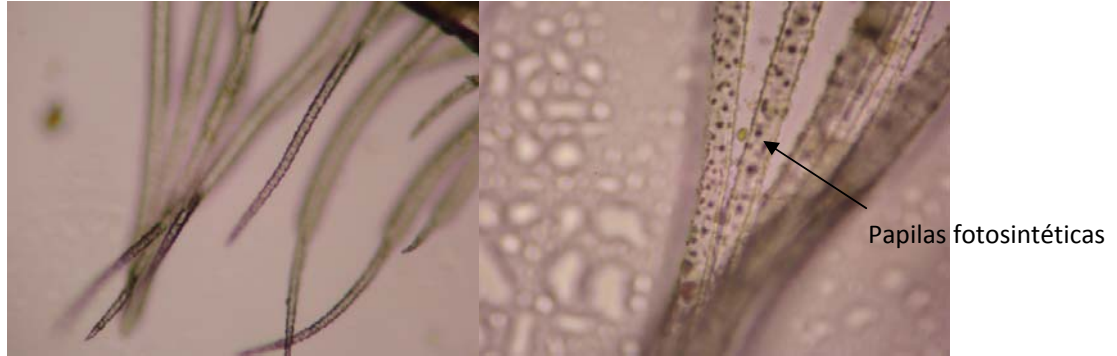


Foto 3.5: a) Pelos unicelulares largos

b) Papilas fotosintéticas

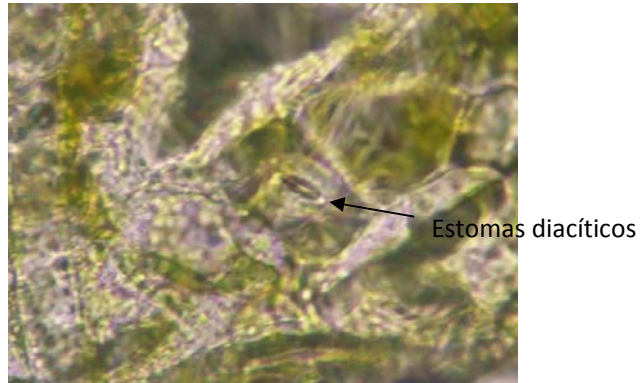


Foto 3.6: Estomas diacíticos



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.2.5 *Solanum nigrescens* (Mortño)

Se encontraron pelos pluricelulares no glandulares con células en forma rectangular, los estomas son diacíticos. (Fotos 3.7)

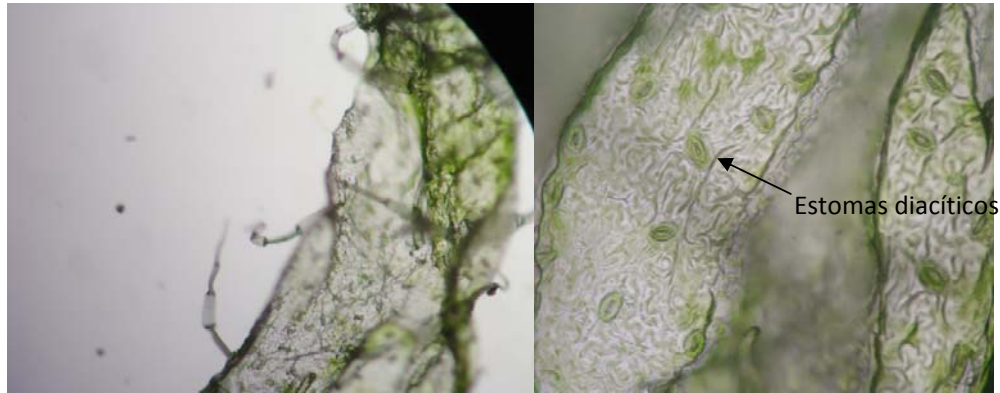


Foto 3.7: a) Pelos pluricelulares no glandulares

b) Estomas diacíticos

3.2.6 *Tagetes filifolia* (Sacha anís)

Se encontraron pelos glandulares unicelulares, estomas ciclocíticos, además se encontró glándulas epiteliales y tallos con lignina y suberina. (Fotos 3.8; 3.9)

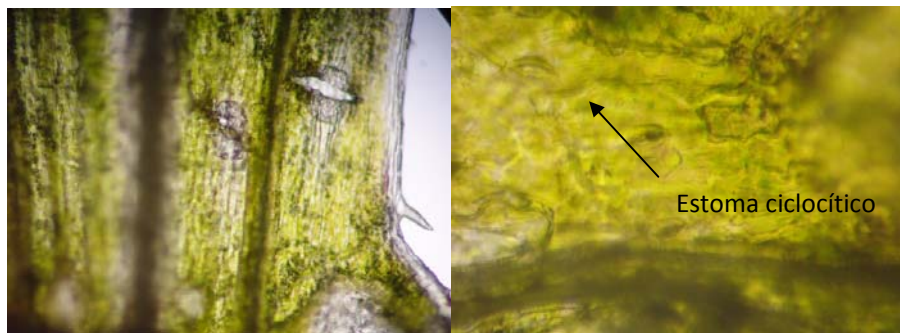


Foto3.8: a) Pelos glandulares unicelulares

b) Estomas ciclocíticos



Foto 3.9:a) Glándulas epiteliales

b) Tallo con lignina y suberina



UNIVERSIDAD DE CUENCA

3.2.7 *Valeriana tomentosa* (Chilpalpal)

Se encontraron 2 tipos de pelos, uno estrellado con numerosos brazos y otros simples secretores unicelulares, los estomas son anisocíticos. (Foto 3.10)



Foto 3.10: a) Pelos estrellados y simples secretores unicelulares

b) Estomas anisocíticos

No se encontró literatura sobre las estructuras microscópicas de las plantas en estudio. En el presente trabajo se estableció una base de datos de la caracterización microscópica de las estructuras fácilmente identificables de las plantas analizadas. Esta caracterización fue realizada con la ayuda de la Dra. Rafaela Ansaloni, Directora del Herbario Azuay de la Universidad del Azuay. Las estructuras identificadas, tanto en fresco como con la digestión alcalina, se muestran en las Fotos de 3.1 a 3.10.

3.3 DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

En las **Tablas 3.1; 3.2; 3.3; 3.4; 3.5; 3.6; y 3.7**, se exponen los resultados sobre el porcentaje de cenizas totales presentes en las plantas recolectadas en los distintos lugares de recolección.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.1: Porcentaje de cenizas totales de Sacha zanahoria (*Arracacia elata*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%) *
San Bartolomé	10,37	9,47	9,92	14
San Roque (Nazón)	10,70	11,03	10,86	14
Yullin	11,49	10,54	11,02	14
San Gabriel	10,57	9,19	9,88	14
Chica Despensa	9,95	9,02	9,48	14

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.2: Porcentaje de cenizas totales del Ñachig (*Bidens andicola*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%) *
San Bartolomé	13,84	11,22	12,53	14
San Roque (Nazón)	13,74	11,19	12,46	14
Zharban (Gualaceo)	12,78	13,15	12,97	14
Yullin	13,41	12,56	12,98	14
Chica Despensa	13,86	11,68	12,77	14

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.3: Porcentaje de cenizas totales del Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%) *
San Bartolomé	7,97	8,49	8,23	14
San Roque (Nazón)	7,34	8,93	8,14	14
Callasay (Gualaceo)	7,99	8,90	8,44	14
La Caldera (Ricaurte)	7,59	7,85	7,72	14



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Sidcay	8,71	9,37	9,04	14
--------	------	------	------	----

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.4: Porcentaje de cenizas totales del Chullku (*Oxalis peduncularis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
Callazay	10,00	9,71	9,85	14
San Roque (Nazón)	7,53	6,97	7,25	14
Capzha (Gualaceo)	8,06	7,03	7,54	14
La Caldera (Ricaurte)	7,82	6,70	7,26	14
Chica Despensa	9,46	8,94	9,20	14

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.5: Porcentaje de cenizas totales del Mortiño (*Solanum nigrescens*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	8,61	8,58	8,59	14
San Roque (Nazón)	8,89	9,20	9,05	14
Sidcay	8,91	9,47	9,19	14
La Caldera (Ricaurte)	10,12	10,42	10,27	14
Nieves (Gualaceo)	8,25	8,15	8,20	14

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.6: Porcentaje de cenizas totales del Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	11,54	9,88	10,71	14
San Roque (Nazón)	13,16	10,64	11,90	14
Sidcay	10,32	10,71	10,52	14
San Gabriel	11,72	10,27	11,00	14
Patamarca	11,44	10,15	10,80	14

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.7: Porcentaje de cenizas totales del Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	5,45	5,62	5,54	14
San Roque (Nazón)	7,39	6,97	7,18	14
Callasay (Gualaceo)	5,44	5,34	5,39	14
Checa	6,55	7,03	6,79	14
Chica Despensa	5,59	5,31	5,45	14

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Como se puede observar en las **Tablas 3.1 a 3.7**, todos los porcentajes de cenizas totales se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Esto nos indica que se ha realizado una correcta selección y lavado de las hojas de las respectivas plantas, eliminando la mayor parte de impurezas como tierra, polvo, arena, etc, que pudieran estar presentes durante la recolección de las mismas. Estos resultados respaldan la idoneidad de los métodos de selección y lavado que se realizan en el proyecto VLIR de Plantas Medicinales.

3.4 DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

En las **Tablas 3.8; 3.9; 3.10; 3.11; 3.12; 3.13; 3.14**, se presenta el porcentaje de cenizas insolubles en HCl presentes en las plantas medicinales recolectadas en los distintos lugares de recolección.

Tabla 3.8: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico de Sacha Zanahoria (*Arracacia elata*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%) *
San Bartolomé	0,40	0,44	0,42	2
San Roque (Nazón)	0,42	0,39	0,40	2
Yullin	0,46	0,46	0,46	2
San Gabriel	0,30	0,38	0,34	2
Chica Despensa	0,56	0,46	0,51	2

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.9: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Ñachig (*Bidens andicola*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%) *
San Bartolomé	4,78	3,20	3,99	2
San Roque (Nazón)	4,66	3,34	4,00	2



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Zharban (Gualaceo)	3,56	3,77	3,67	2
Yullin	4,68	2,92	3,80	2
Chica Despensa	3,83	2,80	3,32	2

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.10: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	0,99	0,94	0,96	2
San Roque (Nazón)	0,96	0,95	0,95	2
Callasay (Gualaceo)	1,04	0,96	1,00	2
La Caldera (Ricaurte)	0,90	0,91	0,90	2
Sidcay	0,82	0,83	0,83	2

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.11: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Chullku (*Oxalis peduncularis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
Callazay	0,84	0,77	0,80	2
San Roque (Nazón)	0,39	0,73	0,56	2
Capzha (Gualaceo)	0,88	0,72	0,80	2
La Caldera (Ricaurte)	0,56	0,60	0,58	2
Chica Despensa	0,63	0,66	0,65	2



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- * Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.12: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Mortiño (*Solanum nigrescens*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	0,40	0,40	0,40	2
San Roque (Nazón)	0,10	0,13	0,12	2
Sidcay	0,08	0,43	0,25	2
La Caldera (Ricaurte)	0,25	0,27	0,26	2
Nieves (Gualaceo)	0,43	0,40	0,41	2

- * Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.13: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	2,93	2,20	2,57	2
San Roque (Nazón)	3,03	2,15	2,59	2



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Sidcay	2,74	1,99	2,36	2
San Gabriel	2,72	2,07	2,40	2
Patamarca	2,35	1,89	2,12	2

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.14: Porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico del Chilpalpal
(*Valeriana tomentosa*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	0,67	0,47	0,57	2
San Roque (Nazón)	0,81	0,98	0,90	2
Callasay (Gualaceo)	0,65	0,57	0,61	2
Checa	0,46	0,96	0,71	2
Chica Despensa	0,62	0,54	0,58	2

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Como se puede verificar en las **Tablas 3.8; 3.10; 3.11; 3.12 y 3.14**, los porcentajes obtenidos en cenizas insolubles en ácido clorhídrico están dentro de los parámetros establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO), a excepción de las plantas que se indican en las **Tablas 3.9 y 3.13** correspondientes al Ñachig y Sacha Anís respectivamente, cuyos valores se encuentran por encima del valor que establece la Organización Mundial de la Salud (WHO). (30)

La alza del porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico por encima del valor referencial, en la especie *Tagetes filifolia* (Sacha anís), se puede deber principalmente, a la presencia de sustancias como lignina de color rojo y suberina de color amarillo en el tallo de las hojas, las cuales siempre se encuentran juntas y



UNIVERSIDAD DE CUENCA

tienen la función de protección mecánica y química, tal como se demuestra en un estudio de una planta endémica de Cuba “*Phyllanthus orbicularis* HBK” realizado por Gutiérrez Gaiten y col. (31), en la cual se encontró estos componentes en el tallo, y en el estudio de “Control de Calidad del *Xanthium spinosum*” de Gutiérrez Duran y col. (32), se demuestra gráficamente una estructura lignificada similar a la encontrada en el Sacha anís.

Este problema se debe a que en el pequeño tallo que atraviesa la hoja del Sacha anís, de la cual se ramifican hojas muy finas y pequeñas, contiene lignina que fue identificada microscópicamente y que según estudios separados realizados por Laredo Covarrubias (33), Núñez Carlos (34), y Gonzales A y col (35), la lignina es un compuesto vegetal indigerible y por lo tanto insoluble en ácido, con lo que se podría explicar el aumento de las cenizas insolubles en ácido clorhídrico en esta planta.

En el caso de *Bidens andicola* (Ñachig), puede deberse a alguna estructura lignificada como en el caso del Sacha Anís, pero microscópicamente no se pudo encontrar algo similar, además tampoco existe bibliografía sobre estudios realizados de esta especie u otros miembros del mismo género que nos permita identificar la causa de estos aumentos elevados de cenizas insolubles.

Otra razón por las que puede existir un aumento de estos valores en dichas plantas es por el tamaño de las hojas, ya que al ser pequeñas estas se pegan entre si y pueden contener restos de tierra o polvo que no son completamente eliminados en el lavado, y que son los principales agentes causantes del aumento de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en las plantas (30).

Según Yinet Barrese Pérez y col. (36), en su estudio “Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L.”, obtuvieron valores de cenizas insolubles en ácido por debajo de los valores normales debido a que esta planta no estaba constituida en su mayor parte por metales pesados.

Por lo que la presencia de metales pesados influyen en la determinación de cenizas insolubles en ácido, pero en nuestro caso es poco probable que se deba a la presencia de metales pesados debido a que el aumento los valores de cenizas por encima del límite establecido se dio en todas las plantas de estas especies recolectadas, lo cual reduce la posibilidad de contaminación por metales pesados.

3. 5 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Los porcentajes de humedad residual obtenida en las plantas medicinales analizadas recolectadas en los distintos lugares se presentan en las **Tablas: 3.15; 3.16; 3.17; 3.18; 3.19; 3.20; 3.21.**

Tabla 3.15: Porcentaje de humedad de Sacha Zanahoria (*Arracacia elata*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	10,35	9,73	10,04	12
San Roque (Nazón)	10,12	9,36	9,74	12
Yullin	10,32	10,03	10,17	12
San Gabriel	9,31	8,73	9,02	12
Chica Despensa	9,33	8,88	9,10	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.16: Porcentaje de humedad del Ñachig (*Bidens andicola*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	10,94	9,16	10,05	12
San Roque (Nazón)	10,00	10,51	10,25	12
Zharban (Gualaceo)	10,34	9,81	10,08	12
Yullin	10,01	9,08	9,54	12
Chica Despensa	11,24	10,22	10,73	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.17: Humedad del Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	10,38	11,11	10,74	12
San Roque	10,00	10,42	10,21	12



UNIVERSIDAD DE CUENCA

(Nazón)				
Callasay (Gualaceo)	9,56	10,81	10,19	12
La Caldera (Ricaurte)	10,24	10,55	10,39	12
Sidcay	10,15	10,53	10,34	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.18: Humedad del Chullku (*Oxalis peduncularis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
Callazay	8,47	7,85	8,16	12
San Roque (Nazón)	8,30	8,25	8,27	12
Capzha (Gualaceo)	9,07	8,44	8,75	12
La Caldera (Ricaurte)	8,42	7,40	7,91	12
Chica Despensa	8,14	7,83	7,99	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.19: Humedad del Mortiño (*Solanum nigrescens*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	10,17	9,63	9,90	12
San Roque (Nazón)	9,13	8,90	9,01	12
Sidcay	9,77	9,51	9,64	12
La Caldera (Ricaurte)	9,84	9,93	9,89	12
Nieves (Gualaceo)	10,04	9,56	9,80	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.20: Humedad del Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	10,18	10,66	10,42	12
San Roque (Nazón)	10,32	9,10	9,71	12



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Sidcay	11,01	8,74	9,87	12
San Gabriel	11,72	9,39	10,56	12
Patamarca	10,21	9,71	9,96	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.21: Humedad del Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION (%)	2 ^{da} REPETICION (%)	PROMEDIO (%)	VALORES REFERENCIALES (%)*
San Bartolomé	6,93	6,32	6,63	12
San Roque (Nazón)	7,10	6,10	6,60	12
Callasay (Gualaceo)	6,84	6,58	6,71	12
Checa	7,90	6,40	7,15	12
Chica Despensa	6,66	6,96	6,81	12

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Las **Tablas 3.15 a 3.21** nos muestra los porcentajes de humedad residual presentes en las plantas, los mismos que se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la (WHO). Estos valores nos indican el correcto proceso de secado y almacenamiento de las hojas de las plantas utilizadas en el proyecto VLIR de Plantas Medicinales. (4) (30)

En el estudio realizado por Muñoz y Sarmiento (37), quienes compararon dos métodos de secado de plantas medicinales a través de la cuantificación de flavonoides y cumarinas, concluyeron que el secado artificial permite un mayor rendimiento en la concentración de principios activos y que gran parte de la humedad es eliminada de la planta lo que garantiza una mejor conservación de la droga durante el almacenamiento, comprobándose en nuestro estudio con la obtención de valores por debajo de los parámetros establecidos, lo cual nos afirma que el proceso de secado y almacenamiento de la droga es adecuado.

3. 6 DETERMINACIÓN DE MOHOS Y LEVADURAS

En las **Tablas 3.22; 3.23; 3.24; 3.25; 3.26; 3.27; 3.28** se demuestran los resultados obtenidos en la determinación de Mohos y Levaduras de las plantas medicinales recolectadas en los distintos lugares.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.22: Mohos y Levaduras de Sacha Zanahoria (*Arracacia elata*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
San Bartolomé	20	10	15	<100
San Roque (Nazón)	0	30	15	<100
Yullin	85	90	87.5	<100
San Gabriel	0	10	5	<100
Chica Despensa	0	10	5	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.23: Mohos y Levaduras de Ñachig (*Bidens andicola*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
San Bartolomé	40	30	35	<100
San Roque (Nazón)	95	95	95	<100
Zharban (Gualaceo)	90	95	92.5	<100
Yullin	0	0	0	<100
Chica Despensa	80	70	75	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.24: Mohos y Levaduras de Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
San Bartolomé	10	0	5	<100
San Roque (Nazón)	60	60	60	<100
Callasay (Gualaceo)	75	80	77.5	<100
La Caldera (Ricaurte)	10	10	10	<100
Sidcay	55	10	32.5	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.25: Mohos y Levaduras de Chullku (*Oxalis peduncularis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
Callazay	90	95	92.5	<100
San Roque (Nazón)	85	80	82.5	<100
Capzha (Gualaceo)	80	85	82.5	<100
La Caldera (Ricaurte)	10	10	10	<100
Chica Dispensa	0	0	0	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.26: Mohos y Levaduras de Mortiño (*Solanum nigrescens*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
San Bartolomé	40	50	45	<100
San Roque (Nazón)	0	0	0	<100
Sidcay	10	0	5	<100
La Caldera (Ricaurte)	75	50	62.5	<100
Nieves (Gualaceo)	0	0	0	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.27: Mohos y Levaduras de Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
San Bartolomé	0	10	5	<100
San Roque (Nazón)	10	10	10	<100
Sidcay	0	0	0	<100
San Gabriel	0	0	0	<100
Patamarca	30	40	35	<100



UNIVERSIDAD DE CUENCA

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.28: Mohos y Levaduras de Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UPC/g	2 ^{da} REPETICION UPC/g	PROMEDIO UPC/g	VALORES REFERENCIALES UPC/g *
San Bartolomé	10	10	10	<100
San Roque (Nazón)	95	90	92.5	<100
Callasay (Gualaceo)	90	90	90	<100
Checa	0	0	0	<100
Chica Despensa	0	0	0	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Las **Tablas 3.22 a 3.28**, nos muestra que los valores de mohos y levaduras están dentro de los parámetros establecidos por la (WHO).

Estos valores nos indican que se ha realizado una buena selección, lavado, secado y almacenamiento de las hojas sujetas a estudio, y no ha existido una fuente de contaminación considerable. (30)

3.7 DETERMINACIÓN DE COLIFORMES TOTALES

En las **Tablas 3.29; 3.30; 3.31; 3.32; 3.33; 3.34; 3.35** se demuestran los resultados obtenidos en la determinación de Coliformes Totales de las plantas medicinales recolectadas en los distintos lugares.

Tabla 3.29: Coliformes Totales de Sacha Zanahoria (*Arracacia elata*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION NMP/g	2 ^{da} REPETICION NMP/g	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES NMP/g *
San Bartolomé	< 3	< 3	< 3	<100
San Roque (Nazón)	< 3	< 3	< 3	<100
Yullin	< 3	< 3	< 3	<100
San Gabriel	< 3	< 3	< 3	<100
Chica	< 3	< 3	< 3	<100



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Despensa				
----------	--	--	--	--

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.30: Coliformes Totales de Ñachig (*Bidens andicola*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION NMP/g	2 ^{da} REPETICION NMP/g	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES NMP/g *
San Bartolomé	< 3	< 3	< 3	<100
San Roque (Nazón)	< 3	< 3	< 3	<100
Zharban (Gualaceo)	< 3	3,6	3,3	<100
Yullin	< 3	< 3	< 3	<100
Chica Despensa	3,6	3,6	3,6	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.31: Coliformes Totales de Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION NMP/g	2 ^{da} REPETICION NMP/g	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES NMP/g *
San Bartolomé	<3	3,6	3,3	<100
San Roque (Nazón)	9,1	3,6	6,35	<100
Callasay (Gualaceo)	9,1	9,1	9,1	<100
La Caldera (Ricaurte)	3,6	3,6	3,6	<100
Sidcay	9,1	9,1	9,1	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.32: Coliformes Totales de Chullku (*Oxalis peduncularis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION NMP/g	2 ^{da} REPETICION NMP/g	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES NMP/g *
Callazay	<3	<3	<3	<100
San Roque (Nazón)	<3	3,6	3,3	<100
Capzha	3,6	3,6	3,6	<100



UNIVERSIDAD DE CUENCA

(Gualaceo)				
La Caldera (Ricaurte)	3,6	3,6	3,6	<100
Chica Despensa	<3	<3	<3	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.33: Coliformes Totales de Mortiño (*Solanum nigrescens*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION NMP/g	2 ^{da} REPETICION NMP/g	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES NMP/g *
San Bartolomé	3,6	3,6	3,6	<100
San Roque (Nazón)	<3	<3	<3	<100
Sidcay	9,1	9,1	9,1	<100
La Caldera (Ricaurte)	3,6	7,3	5,45	<100
Nieves (Gualaceo)	<3	<3	<3	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.34: Coliformes Totales de Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION NMP/g	2 ^{da} REPETICION NMP/g	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES NMP/g *
San Bartolomé	<3	<3	<3	<100
San Roque (Nazón)	<3	<3	<3	<100
Sidcay	<3	<3	<3	<100
San Gabriel	9,1	9,1	9,1	<100
Patamarca	<3	<3	<3	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.35: Coliformes Totales de Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION	2 ^{da} REPETICION	PROMEDIO NMP/g	VALORES REFERENCIALES
-------	----------------------------	----------------------------	----------------	-----------------------



UNIVERSIDAD DE CUENCA

	NMP/g	NMP/g		NMP/g *
San Bartolomé	< 3	< 3	< 3	<100
San Roque (Nazón)	< 3	< 3	< 3	<100
Callasay (Gualaceo)	< 3	< 3	< 3	<100
Checa	< 3	< 3	< 3	<100
Chica Despensa	< 3	< 3	< 3	<100

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Como observamos en las **Tablas 3.29 a 3.35**, el número más probable por gramo de todas las plantas están dentro de los valores referenciales establecidos por la Organización Mundial de la Salud (WHO). (30)

Los resultados obtenidos en este ensayo, nos muestra una buena selección, lavado, secado y almacenamiento de las muestras analizadas.

3. 8 DETERMINACIÓN DE BACTERIAS AEROBIAS MESÓFILAS

En las **Tablas 3.36; 3.37; 3.38; 3.39; 3.40; 3.41; y 3.42**, se demuestran los resultados obtenidos en la determinación de bacterias aerobias mesófilas de las plantas medicinales recolectadas en los distintos lugares.

Tabla 3.36: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Sacha Zanahoria (*Arracacia elata*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
San Bartolomé	50	60	55	10000
San Roque (Nazón)	80	100	90	10000
Yullin	70	65	67.5	10000
San Gabriel	240	240	240	10000
Chica Despensa	0	0	0	10000

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.37: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Ñachig (*Bidens andicola*)



UNIVERSIDAD DE CUENCA

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
San Bartolomé	0	0	0	10000
San Roque (Nazón)	70	125	97.5	10000
Zharban (Gualaceo)	240	295	267.5	10000
Yullin	0	0	0	10000
Chica Despensa	175	230	202.5	10000

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.38: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Karipoleo (*Minthostachys mollis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
San Bartolomé	10	0	5	10000
San Roque (Nazón)	30	70	50	10000
Callasay (Gualaceo)	130	135	132.5	10000
La Caldera (Ricaurte)	20	10	15	10000
Sidcay	40	80	<60	10000

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.39: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Chullku (*Oxalis peduncularis*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
Callazay	180	100	140	10000
San Roque (Nazón)	120	65	92.5	10000
Capzha (Gualaceo)	205	200	202.5	10000
La Caldera (Ricaurte)	230	235	232.5	10000
Chica Despensa	60	40	50	10000

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Tabla 3.40: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Mortiño (*Solanum nigrescens*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
San Bartolomé	40	40	40	10000
San Roque (Nazón)	20	60	40	10000
Sidcay	60	50	55	10000
La Caldera (Ricaurte)	40	50	45	10000
Nieves (Gualaceo)	50	85	67.5	10000

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.41: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Sacha Anís (*Tagetes filifolia*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
San Bartolomé	10	10	10	10000
San Roque (Nazón)	20	10	15	10000
Sidcay	10	0	5	10000
San Gabriel	0	0	0	10000
Patamarca	75	75	75	10000

* Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Tabla 3.42: Bacterias Aeróbicas Mesófilas de Chilpalpal (*Valeriana tomentosa*)

LUGAR	1 ^{ra} REPETICION UFC/g	2 ^{da} REPETICION UFC/g	PROMEDIO UFC/g	VALORES REFERENCIALES UFC/g *
San Bartolomé	0	0	0	10000
San Roque (Nazón)	30	20	25	10000
Callasay (Gualaceo)	20	30	25	10000
Checa	0	0	0	10000
Chica Despensa	0	0	0	10000



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- * Los valores referenciales corresponden a la Guía para control de calidad para plantas medicinales de la Organización Mundial de la Salud (WHO).

Las **tablas 3.36 a 3.42**, nos muestra que los recuentos de éstas bacterias se encuentran dentro de los límites establecidos por la (WHO). (30)

Esto nos indica que los procedimientos de selección, lavado, secado y almacenado de la droga son correctos y que garantiza la inocuidad de los extractos obtenidos en sus laboratorios.

Sánchez Victoria y col. (38), obtuvieron recuentos por debajo de los valores establecidos en los recuentos de Mohos y Levaduras, Bacterias aerobias mesófilas y Coliformes Totales. En nuestro estudio obtuvimos resultados por debajo de los parámetros establecidos por la WHO en las determinaciones anteriormente descritos, aunque el estudio de Sánchez Victoria y col. nos sugiere que la determinación de mohos y levaduras, representan un peligro para la salud humana, incluso cuando los conteos se encuentren por debajo de los parámetros establecidos debido al potencial toxigénico que estos microorganismos poseen.



CAPITULO IV

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- ✓ Los procesos de selección, lavado y secado de las hojas de las plantas recolectadas en los distintos lugares fueron correctamente realizadas, ya que al aplicar métodos oficiales de la farmacopea de la Organización Mundial de la Salud para el control de calidad de la droga vegetal los resultados que se obtuvieron están dentro de los parámetros establecidos por la OMS.
- ✓ Se pudo establecer un registro fotográfico de la micrografía de las diferentes especies analizadas en esta tesis, muchas de estas plantas no presentaban registros anteriores sobre esta estructura.
- ✓ En cuanto a la determinación de cenizas totales, al obtener resultados dentro de los parámetros establecidos, se valida los procedimientos de selección, lavado y secado de plantas medicinales en el proyecto VLIR de Plantas Medicinales de la Escuela de Bioquímica y Farmacia de la Universidad de Cuenca, ya que se demostró que el lavado de las plantas fue apropiado eliminando la mayor cantidad de tierra, polvo que pudiera estar presente y así haciendo de la materia prima óptima para su uso en la obtención de extractos.
- ✓ Los valores de cenizas insolubles en ácido clorhídrico de las plantas, se encuentran dentro de los parámetros establecidos, lo que nos indica también que existió un buen lavado de las hojas eliminando restos de tierra, polvo u otras sustancias que pudieran alterar estos parámetros. Los valores de, *Tagetes filifolia* y *Bidens andicola* se encuentran por encima de los valores permitidos, este resultado puede deberse primeramente, a la estructura de las hojas, que al ser muy pequeñas, pueden contener residuos de tierra que repercuten en este análisis, o a la presencia de ciertas estructuras que se encuentran en el tallo como lignina y suberina.
- ✓ Los porcentajes de humedad obtenidos estuvieron dentro de los parámetros establecidos lo cual nos indica que el almacenamiento de la droga vegetal después de haber sido seleccionada, lavada y secada, garantiza la calidad de la misma y de los extractos que se obtengan a partir de ellas.
- ✓ Los valores obtenidos en las pruebas microbiológicas realizadas: **mohos y levaduras, coliformes totales y bacterias aerobias mesófilas**, se



UNIVERSIDAD DE CUENCA

encuentran por debajo de los límites permitidos para estos microorganismos, garantizando que los procesos de selección, lavado, secado y almacenamiento de plantas medicinales del proyecto VLIR son adecuados con lo que se asegura que los extractos que se obtengan serán de calidad.

4. 2. RECOMENDACIONES

- ✓ Se debe tener un especial cuidado con el lavado, particularmente con plantas que poseen hojas pequeñas ya que residuos de tierra o polvo, quedan impregnadas en su superficie y no son retiradas completamente durante el lavado. Esto causa alteraciones en las pruebas de control de calidad como el aumento de porcentaje de cenizas y un aumento en el recuento microbiológico.
- ✓ Se recomienda durante la recolección, tomar datos importantes como humedad del ambiente, hora de recolección, etapa de maduración de la planta; ya que todo esto influye en la cantidad de metabolitos presentes o en los parámetros físico-químico determinados.
- ✓ Evitar recolectar plantas que se encuentren en las orillas de las carreteras ya que se acumula gran cantidad de tierra, polvo en sus hojas y resulta difícil eliminar estos residuos en el lavado.
- ✓ Lavar las hojas con agua a presión ya que así se asegura la eliminación de la mayor cantidad de tierra, polvo o insectos que se encuentren adheridos a ellas.
- ✓ Realizar antes de todas la pruebas el control microbiológico, para así evitar contaminación de la droga vegetal al abrir la funda en la que se encuentra almacenada.



5. BIBLIOGRAFÍA

- 1) Calixto J.B. **Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents).** *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. (2000) Vol.33: págs. 180-187.
- 2) Vila Roser, Canigueral Salvador. **La Fitoterapia como herramienta terapéutica.** Vol. 6. 1995
- 3) EUROPEAN MEDICINES AGENCY. **“Guideline on specifications: test procedures and acceptance criteria for herbal substances, herbal preparations and herbal medicinal products traditional herbal medicinal products”.** London. 2006.
- 4) Mukherjee Pulok. **Quality Control of Herbal Drugs. An Approach to Evaluation of Botanicals.** Editorial Horizons. New Delhi, India. (2008).
- 5) Alina Freire Fierro. **Botánica Sistemática Ecuatoriana.** FUNDACYT, QCNE, RLB Y FUNBOTANICA. St. Louis, Missouri. 2004. Pág. 17
- 6) Kleber Rivas Carrión. **Compendio de Botánica.** Imprenta Rocafuerte. Cuenca Ecuador. 2009. Pág.71
- 7) Norma UNIT – ISO 8402.
- 8) Verpoorte Robert, Mukherjee k Pulok. **GMP for Botanicals. Regulatory and Quality Issues on Phytomedicines.** New Dehli. 2003.
- 9) Kuklinski Claudia; **Farmacognosia;** Ediciones Omega; Barcelona.2000.
- 10)OMS. **WHO Guidelines on Good Manufacturing Practices (GMP) for Herbal Medicines.**Editorial de la OMS. Francia. 2007.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- 11) Gaedcke, Steinhoff; **Herbal Medicinal Products**; Medpharm. Germany. 2003.
- 12) Mammen D, Daniel M, Sane RT. **Variations in values of proximate analysis in Aerva lanata, Juss ex schultes, Hedyotis corymbosa (L.) lam. and Leptadenia reticulata (Retz.).** *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. Vol.1/Issue-4/Oct-Dec.2010
- 13) Salvador Cañigueral, Roser Vila. **La Fitoterapia como herramienta terapéutica.** *Ginecología y Obstetricia Clínica* 2005. Pag: 45
- 14) Verpoorte Robert, Mukherjee k Pulok. **GMP for Botanicals. Regulatory and Quality Issues on Phytomedicines.** New Dehli. 2003. Pag.7
- 15) Sharapin Nikolai. **Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos.** Primera Edición: marzo del 2000. Realización: Área de ciencia y tecnología del Convenio Andrés Bello & Red Iberoamericana de Productos Fitofarmacéuticos (RIPROFITO) del subprograma X del CYTED. Santafé de Bogotá – Colombia
- 16) Canigueral Salvador, Dellacassa Eduardo, Bandoni L. **Plantas Medicinales y Fitoterapia :¿Indicadores de Dependencia o Factores de Desarrollo?.** *Acta Farmacéutica Bonaerense*. Vol. 22 # 3. 2003. Pag.271
- 17) Muñoz Fernando. **Plantas Medicinales y Aromáticas: Estudio, Cultivo y Procesado.** España. 2002. Pags: 29,30,64
- 18) De la Torre L., Navarrete H., Muriel P., Macía N., y Balslev H. **Enciclopedia de las Plantas Útiles del Ecuador.** Quito, Ecuador. 2008.
- 19) www.mobot.org/MOBOT/paramo/search_paramo.asp?searchFor=Arracacia+elata. Fecha de Consulta: 18 de Octubre del 2011.
- 20) Aguilar Z., Hidalgo P., Ulloa C. **Guía de Plantas Útiles de los Páramos de Zuleta, Ecuador.** Proyecto de Manejo y Aprovechamiento Sustentable de Alpacas en los Páramos de Zuleta. PPA-EcoCiencia. Quito, Ecuador. 2009
- 21) Rios M., Koziol M., Borgtoft Pedersen y Granda. **Plantas Útiles del Ecuador: Aplicaciones, Retos y Perspectivas.** Ediciones Abya Yala. Quito, Ecuador. 2007.
- 22) Cano Carlos. **Actividad Antimicótica in vitro y Elucidación Estructural del Aceite Esencial de las Hojas de *Minthostachys mollis*.** Universidad de San Marcos. Lima, Perú. 2007.



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- 23) Bonzani N., Ariza L. **Estudios Anatómicos de tres Especies de Lamiaceas Usadas en Medicina Popular.** Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba, Argentina. 1993.
- 24) Díaz K. **Determinación de la Actividad Antibacteriana “in vitro” de *Minthostachys mollis* griseb frente a Bacterias Orales de Importancia Estomatológica.** Universidad de San Marcos. Lima, Perú. 2005.
- 25) Cordero L. **Estudios Botánicos.** Universidad de Cuenca. Cuenca, Ecuador. 1984.
- 26) Pardo O. **Etnobotánica de algunas Cactáceas y Suculentas del Perú.** Chloris chilensis, Revista Chilena Año 5. N° 1.2002.
- 27) Del Cid N. **Actividad de Diecisiete Extractos de Doce Plantas Nativas Guatemaltecas contra *Fonsecaea pedrosoi*.** Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 2005.
- 28) Girón C. **Eficacia del Tratamiento contra la Viruela Cutánea aviar utilizando la Pomada Elaborada a base de Hierba Mora.** Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 2006.
- 29) Arteta M. **Etnobotánica de Plantas Vasculares en el Centro Poblado Llachón, distrito Capachica, Departamento Puno.** Universidad Nacional de san Agustín de Arequipa. Arequipa, Perú. 2008.
- 30) World Health Organization. **Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials.** Geneva. 1998
- 31) Gutiérrez Y, Martínez M, del Barrio G, Torres N, Mayoral J. **Evaluación farmacognostica y fitoquímica preliminar de *hyllantus rbicularis* HBK.** La Habana – Cuba. 2000
- 32) Gutierrez M, Limachi G, Gonzales E. **Control de Calidad del *Xanthium spinosum*, planta medicinal expendida en la ciudad de La Paz, Bolivia.** BIOFARBO, vol.19. Bolivia. 2011
- 33) Covarrubias L, M.A. **Técnicas en la evaluación de forrajes.** Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá – Colombia. 1979
- 34) Nuñez C. **Análisisquímico de los recursos fibrosos para pulpa.** PROCYP. Universidad Nacional de Misiones. Argentina. 2004.
- 35) Gonzáles A., Herrera H., Rodríguez A. **Caracterización de fracciones de lignina extraídas del licor negro con solventes orgánicos.** Revista Forestal Latinoamericana. Vol. 22. 2007



UNIVERSIDAD DE CUENCA

- 36) Barrese Y, Hernandez M, Garcia O. **Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata***. Rev Plant Med. Cuba. 2005
- 37) Muñoz J, Sarmiento D. **“Valoración comparativa de dos métodos de secado de plantas medicinales a través de la cuantificación de flavonoides y cumarinas”**. Cuenca-Ecuador. 2010
- 38) Sanchez V, Gonzales A, Lura M. **Análisis microbiológico de Hierbas Medicinales y sus Contaminación por Especies de *Aspergillus Toxicogenicos***. Universidad Nacional del Litoral. Santa Fe- Argentina. 2005

6. ANEXOS

ANEXO 1

Arracacia elata (Sacha zanahoria)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 2

Bidens andicola (Ñachig)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 3

Minthostachys mollis (Karipoleo)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 4

Oxalis peduncularis (Chullku)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 5

Solanum nigrescens (Mortño)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 6

Tagetes filifolia (Sacha anís)





UNIVERSIDAD DE CUENCA

ANEXO 7

Valeriana tomentosa (Chilpalpal)





UNIVERSIDAD DE CUENCA