



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

ANÁLISIS DE LA FLOR DE JAMAICA

(Hibiscus sabdariffa),

SEGÚN FARMACOPEA HERBOLARIA DE LOS
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS (FHEUM), UNA
PROPUESTA DIDÁCTICA PARA LA ASIGNATURA
“ANÁLISIS DE MEDICAMENTOS” ENSEÑANZA
PRÁCTICA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

ÁLVAREZ VARGAS NORMA PATRICIA



MÉXICO ,D.F.

2006



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado

Presidente	Prof. Isaura Luisa Carrera García
Vocal	Prof. María Teresa Buentello Rodríguez
Secretario	Prof. María de los Dolores Campos Echeverría
1er. Suplente	Prof. Pedro Salvador Valadez Eslava
2º. Suplente	Prof. Natividad García Escamilla

Sitio en donde se desarrollo el tema

Laboratorio 1E, Edificio A, Facultad de Química UNAM.

Departamento de Control Analítico, Facultad de Química, UNAM.

Asesor del tema

Q.F.B. Isaura Luisa Carrera García

Sustentante

Álvarez Vargas Norma Patricia

Dedicatoria

A Dios, por darme una vida tan maravillosa, salud, una familia muy especial y la oportunidad de seguir creciendo día a día.

A mis padres, por enseñarnos que la verdadera fortaleza de una familia recae en la unidad y en la confianza que pueda existir entre sus miembros.

A mi mamá, por enseñarme a luchar todos los días para lograr terminar las metas que uno se propone, y el incalculable e incondicional apoyo que me brinda.

A mi papá, uno de los mejores ejemplos de superación y por el apoyo de todos estos años.

Querido Pepito, la mayoría de los sueños que sean convertido en realidad en mi vida, es porque tu has puesto lo mejor de ti en cada uno, gracias por ser el mejor amigo, el mejor hermano y el mejor ángel de mi guarda que Dios puso en mi camino, este sueño también ha sido tuyo, gracias por hacerlo realidad.

Vladimir, has compartido parte de este sueño y deseo de todo corazón que podamos compartir y concluir sueños en común.

Profra. Isaura, no se encuentran las palabras para agradecer todo su tiempo, apoyo, dedicación pero sobre todo su amistad y la confianza que ha depositado en todo momento.

Prof. Raúl Garza, mi presencia en la Facultad no hubiese sido posible, sin la oportunidad que me brindó de regresar y comenzar un camino aún desconocido pero que me ha llenado no sólo intelectualmente sino como una persona, gracias.

Profra Ma. Del Socorro Alpizar Ramos, gracias por su amistad incondicional y confianza de todos estos años y espero que perdure por muchos más.

Profra. Honoria, gracias por ese cariño y apoyo para lograr realizar el trabajo experimental.

A mis maestros, que han sido la vía propicia para ayudarme a crecer y aprender.

A mis amigos, Sandra, Susana, Denia, Jorge Alberto, Jessica, Quique, Paul, que hicieron que los días de escuela fueran muy agradables y que como personas se han abierto para brindarme su amistad y apoyo incondicional.

Diana, la experiencia de conocerte y lograr ser parte de tus amistades en un plazo tan corto sólo puede hablar del enorme corazón que hay dentro de ti, gracias por todo tu apoyo.

Verónica, una mujer que luchar todos los días como tú, solo puede uno desearle éxito, felicidad y agradecerle por lo generosa que es con todos los alumnos.

A mis compañeros y alumnos, con especial cariño a David y Karina, por darme la oportunidad de seguir creciendo con ellos y reconocer la enorme responsabilidad que implica el quehacer docente, la cual ha sido una de las experiencias más hermosas de mi vida.

A las profesoras: Tere, Chelo, Dolores, Gina, Carolina, por su apoyo y atención prestada.

Con un especial agradecimiento a la Profra. María Luisa Padilla y a todo el personal que trabaja en el Departamento de Control Analítico, Facultad de Química, UNAM, por todas las atenciones prestadas a la realización de esta tesis.

	Página
Objetivos	1
I. Introducción	2
II. Generalidades	4
II. 1 Medicina tradicional herbolaria	4
II. 2 Control de calidad en la medicina tradicional herbolaria	5
II. 3 Flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	12
II. 4 Investigación médica de la Flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)	17
III. Análisis y Justificación de las Exigencias Farmacopéicas en el Análisis de Flor de Jamaica	21
Pruebas particulares	
a) Descripción macroscópica	26
b) Descripción microscópica	27
c) Ensayo de identidad	28
d) Materia extraña	30
e) Pérdida por secado	31
f) Cenizas totales	32
g) Material extraíble	33
h) Valoración	34
Pruebas Generales	
Metales pesados	37
Plaguicidas	37
Determinación de microorganismos	39
Detección de aflatoxinas	41
IV. Parte Experimental	
IV. 1 Reactivos y equipo	45
IV. 2 Muestra Analítica	45
IV. 3 Descripción macroscópica	46
IV. 4 Descripción microscópica	46

	Página
IV. Parte Experimental (Continuación)	
IV. 5 Ensayo de identidad	47
IV. 6 Materia extraña	49
IV. 7 Pérdida por secado	50
IV. 8 Cenizas totales	50
IV. 9 Material extraíble	51
IV. 10 Valoración	52
IV. 11 Color de la solución	53
IV. 12 Diagramas de trabajo	55
V. Resultados	
V.1. Descripción macroscópica	66
V.2. Descripción microscópica	68
V.3. Ensayo de identidad	71
V.4. Materia extraña	73
V.5. Pérdida por secado	73
V.6. Cenizas totales	74
V.7. Material extraíble	74
V.8. Valoración	75
V.9. Color de la solución	76
VI. Discusión de Resultados	77
VII. Conclusiones	83
VIII. Referencias Bibliográficas	85
Anexo I	88
Glosario	92

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar una práctica para la asignatura de Análisis de Medicamentos enseñanza práctica, representativa de los métodos de análisis, especificaciones y técnicas oficiales nacionales que se establecen en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos y en otras publicaciones, que deben cumplir las plantas y derivados de ellas, que se utilicen en la elaboración de medicamentos y remedios herbolarios.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar una revisión del programa de prácticas de la asignatura “Análisis de medicamentos”.
2. Seleccionar una materia prima de las monografías publicadas en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM), tomando en cuenta los parámetros siguientes:
 - 2.1 Materia prima factible de conseguirse en el mercado mexicano, en cualquier época del año.
 - 2.2 El manejo de la misma no implique un riesgo a la salud.
 - 2.3 Que contenga métodos analíticos representativos del análisis de las plantas y derivados de ellas, que se utilizan en la elaboración de medicamentos y remedios herbolarios.
3. Utilizar en los casos de omisiones, imprecisiones y/o errores otras referencias bibliográficas del área.
4. Diseñar una práctica factible de ser desarrollada con la infraestructura de los laboratorios de docencia del Departamento de Farmacia en el tiempo destinado para la enseñanza práctica de la asignatura.
5. Proporcionar al alumno, elementos que le permitan desarrollarse en el área de control de calidad de plantas medicinales y realizar aportaciones para enriquecer la información oficial nacional existente en esta área.

I. INTRODUCCIÓN

La práctica de la Medicina Tradicional ha estado presente en todas las culturas del mundo, pero hasta el siglo pasado, las Organizaciones a nivel mundial y regional se han interesado por implementar políticas y acciones dirigidas a su inclusión dentro de las prácticas oficiales de los Sistemas de Salud.

La Herbolaria es una rama de la Medicina Tradicional, que en nuestro país se practica desde la época prehispánica y ha logrado gran arraigo en los últimos años, sin embargo existe la necesidad de garantizar la calidad de las plantas medicinales, remedios, fármacos y derivados preparados a partir de ellas. Una de las medidas establecidas para la reglamentación oficial del control de calidad de las plantas medicinales en México, es la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos.

Una de las actividades primordiales de la asignatura Análisis de Medicamentos es: que el alumno maneje las referencias básicas para el análisis de los medicamentos (Farmacopeas y Normas Oficiales). La inclusión de una práctica basada en la monografía de un producto herbario como es la Flor de Jamaica, contenida en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM) constituye una experiencia enriquecedora en cuanto a:

- ❖ Manejo e interpretación de las indicaciones farmacopéicas.
- ❖ Muestreo de material herbolario.
- ❖ Tratamiento de la muestra.
- ❖ Comprensión de los objetivos y puntos críticos de cada una de las determinaciones analíticas como una norma para realizar de manera crítica el trabajo experimental.
- ❖ Y el impacto de la generación de resultados confiables en la toma correcta de decisiones.

La asignatura Análisis de Medicamentos forma parte fundamental del mapa curricular del Químico Farmacéutico Biólogo, ubicada en el plan de estudios anterior en el octavo semestre (clave 1846), con un valor curricular de 12 créditos (3 horas de teoría y 6 horas de práctica); en el plan actual está ubicada en el séptimo semestre, tiene un valor curricular de 10 créditos (3 horas de teoría y 4 horas de práctica). Como puede observarse, la reestructuración del tiempo destinado a la enseñanza práctica requiere de evaluar si se puede implementar el análisis farmacopéico de Flor de Jamaica como parte de las prácticas que actualmente se realizan dentro del curso experimental, tomando en cuenta la infraestructura con que cuentan los laboratorios (1-E y 1-F) destinados a la impartición del curso.

Para elaborar la propuesta de práctica se realizó la siguiente secuencia de trabajo:

- I. Investigación bibliográfica acerca del análisis en general de plantas medicinales, de acuerdo a la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos y Reglamentos Oficiales Nacionales e Internacionales.
- II. Investigación bibliográfica de las Farmacopeas que contienen la Monografía de la Flor de Jamaica, con la finalidad de realizar un análisis acerca de las especificaciones y determinaciones analíticas sobre las similitudes, diferencias que pudieran existir, así como subsanar omisiones, imprecisiones y / o errores que fueran causa de la publicación.
- III. Muestreo del producto herbario Flor de Jamaica de acuerdo a las especificaciones y requerimientos de la FHEUM.
- IV. Desarrollo del trabajo experimental conforme a las determinaciones analíticas descritas en la Monografía de Flor de Jamaica de FHEUM, capaces de implementarse de acuerdo a los recursos materiales y de infraestructura disponibles, así como la inclusión de otras determinaciones analíticas de Farmacopeas oficiales que enriquecen el análisis y el conocimiento del alumno, siguiendo las Buenas Prácticas de Laboratorio.
- V. Propuesta de las determinaciones analíticas que puedan realizarse como parte de una práctica docente para la asignatura de Análisis de Medicamentos, enseñanza práctica.

Para la elección de la Monografía de Flor de Jamaica se consideró la baja toxicidad que representa su manejo, la diversidad de pruebas analíticas que son requeridas, la facilidad del tratamiento de los residuos generados antes de su disposición final, además que puede encontrarse en el mercado en cualquier época del año.

II. GENERALIDADES

II. 1 Medicina tradicional herbolaria

La medicina tradicional en nuestro sistema sanitario es considerada como una alternativa de tratamiento. Culturalmente ha estado presente desde la época prehispánica; nuestros ancestros indígenas aprovechaban la riqueza de la flora y fauna de la región y alcanzaron un conocimiento de la botánica local, sobre la determinación de las propiedades curativas y un sistema de salud organizado e integrado por tlama (médicos), texoxolatitl (cirujanos), tesor (sangradores), en el aspecto farmacéutico, a los papini (recolectores y seleccionadores), panamacani (preparadores de medicamentos), y panamacoyan (boticarios).

Parte de estos conocimientos originales se plasmaron en obras del siglo XVI como:

- ❖ El *Libellus de medicinalibus indorum herbis*, libro original redactado en náhuatl del médico indígena Martín de la Cruz (1521) traducida al latín por Juan Badiano, (Códice De la Cruz-Badiano).
- ❖ El *Códice Florentino publicado como Historia general de las cosas de la Nueva España escrito por* fray Bernardino de Sahagún *en su libro XI capítulo 7 titulado "De toda clase de hierbas"*, es un pequeño inventario de plantas indígenas.
- ❖ *La Historia de las Plantas de la Nueva España*, por Francisco Hernández a instancia y con el respaldo oficial de la Corona española. Es una obra que consta de 16 volúmenes, numerosos dibujos indígenas y una colección de plantas disecadas.
- ❖ *La Historia Natural* de fray Juan Navarro en el quinto volumen titulado el *Jardín americano*, 1801. Es un herbario medicinal ilustrado de carácter práctico, contiene dos índices, uno de plantas y otro de enfermedades .

La OMS define a la medicina tradicional como: “prácticas, enfoques, conocimientos y creencias sanitarias diversas que incorporan medicinas basadas en plantas, animales y /o minerales, terapias espirituales, técnicas manuales y ejercicios aplicados de forma individual o en combinación para mantener el bienestar, además de tratar, diagnosticar y prevenir las enfermedades”.(1).

(1) OMS, Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002- 2005, p 7.

II. 2 Control de calidad en la medicina tradicional herbolaria

La expansión de la medicina tradicional en el mundo, sin una instrumentación paralela de normas internacionales, nacionales, métodos analíticos y procedimientos, ha originado un amplio debate entre los profesionales del área y los responsables de las políticas de salud sobre como se debe garantizar la seguridad, eficacia, calidad, disponibilidad y preservación de los medicamentos herbarios.

Los criterios de inclusión de los productos herbolarios en el momento de clasificarlos como: medicamento herbario, remedio herbolario o alimento varían de un país a otro; como una forma de unificar el criterio de medicamento herbario la OMS ha emitido el concepto siguiente:

“Medicamento herbario : un material derivado de plantas con propiedades terapéuticas o de otra índole para la salud humana y que contenga ingredientes en bruto o elaborados procedentes de una o más plantas. En algunas tradiciones pueden estar presentes materiales de origen animal o inorgánico.”(2)

Sin embargo la misma OMS considera la posibilidad que cada país determine de manera específica de acuerdo con las normas internacionales y nacionales conceptos particulares, de esta forma en México la definición de medicamento herbolario es:

“Medicamento herbolario: cualquier planta cuyo beneficio terapéutico ha sido demostrado científicamente, cuya fórmula se encuentra registrada y tienen uso dentro de la Industria Farmacéutica”. Los medicamentos herbolarios, además de contener material vegetal, podrán adicionar en su formulación excipientes y aditivos.”(3)

También se establece la definición de:

“ Remedio herbolario: se considera Remedio Herbolario al preparado de plantas medicinales, o sus partes, individuales o combinadas y sus derivados, presentado en forma farmacéutica, al cual se le atribuye por conocimiento popular o tradicional, el alivio para algunos síntomas participantes o aislados de una enfermedad. Cualquier tipo de planta cuyo beneficio terapéutico aún no ha sido demostrado científicamente, sin embargo, cuentan con un registro sanitario alfanumérico.”(4)

(2) OMS, Pautas de investigación para la evaluación de la inocuidad y la eficacia de los medicamentos herbarios, Manila, 1993, pp 35-40.

(3) Secretaría de Salud, Reglamento de Insumos para la salud, México, 1998, Art.66.

(4) Secretaría de Salud, Reglamento de Insumos para la salud, México, 1998, Art.88.

El enfoque legislativo internacional para considerar a los productos herbolarios como medicamentos, remedios o productos alimenticios varía ampliamente.

El desarrollo de las leyes destinadas a regular estos productos no ha sido de manera armónica, sin embargo de manera general las diferentes situaciones reglamentarias a nivel mundial, se pueden englobar en las siguientes categorías:

- ❖ Los mismos requisitos reglamentarios para todos los productos;
- ❖ Los mismos requisitos reglamentarios para todos los productos , con ciertos tipos de pruebas no requeridas para medicamentos herbarios o tradicionales;
- ❖ Exención de todos los requisitos reglamentarios para los medicamentos herbarios o tradicionales;
- ❖ Exención de todos los requisitos reglamentarios para los medicamentos herbarios o tradicionales en cuanto al registro o la autorización de comercialización.
- ❖ Medicamentos herbarios o tradicionales sujetos a todos los requisitos reglamentarios, y
- ❖ Medicamentos herbarios o tradicionales sujetos a los requisitos reglamentarios en cuanto al registro o la autorización de comercialización.

Algunos países incluyen a los productos: “oficialmente reconocidos” y “oficialmente aprobados”, los cuales se pueden comercializar sin requerir de una evaluación científica, sin embargo existe otros en que no existen órganos normativos y se requiere implementar un sistema apropiado que garantice la calidad antes de la comercialización (5).

La Asamblea Mundial de la Salud en la Declaración de Alma-Ata (1978), recomendó la inclusión de medicina tradicional de utilidad comprobada en las políticas farmacéuticas y las medidas normativas respectivas.

En 1991 la Organización Mundial de la Salud, en la Cuadragésima Cuarta Asamblea Mundial de la Salud presentó la política referente a la medicina tradicional, en donde se comprometió con los estados miembros a colaborar en las políticas nacionales, la legislación y las decisiones sobre la naturaleza y el grado de uso de la medicina tradicional en sus sistemas de salud.

En la cuarta sesión de la Conferencia Internacional sobre Autoridades Reguladoras de Medicamentos (ICDRA) en 1986 se incluyó al medicamento herbolario ; en junio de 1991 en Munich Alemania en una reunión de consulta de la OMS se redactaron Normas para la evaluación de los Medicamentos Herbarios, adoptadas en octubre para uso general por la Sexta ICDRA donde se definen los criterios básicos para la evaluación de la calidad, inocuidad y la eficacia de los medicamentos herbarios.

(5) OMS, Situación reglamentaria de los medicamentos. Una reseña mundial. 2000, p 2.

Las recomendaciones de la Sexta ICDRA impulsaron a la OMS a seguir elaborando monografías farmacopéicas de los medicamentos herbarios, el Programa de Medicina Tradicional preparó un documento titulado "Monografías de la OMS sobre Plantas Medicinales Seleccionadas", con 28 monografías, presentado durante la Octava reunión de la ICDRA en Bahrein en noviembre de 1996.

La Oficina Regional de la OMS para las Américas revisó la situación y el uso de la Medicina Tradicional, la reunión regional sobre los aspectos legislativos de los productos con base de hierbas fue celebrada en el año 2000. La regulación y registro de medicinas herbolarias en América se ha establecido en Bolivia, Chile, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Honduras, Guatemala, México, Perú y Venezuela.

La Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002- 2005 agrupa en cuatro categorías los problemas a resolver :

1. Política nacional y marco de trabajo legislativos

- ❖ Falta de reconocimiento oficial de la medicinal tradicional (MT) y medicina complementaria y alternativa (MCA).
- ❖ La medicinal tradicional y medicina complementaria y alternativa no está integrada en los sistemas nacionales de salud.
- ❖ Falta de mecanismos legislativos y legales.
- ❖ Distribución inequitativa de los beneficios del conocimiento y los productos indígenas de medicina tradicional.
- ❖ Inadecuada distribución de los recursos para el desarrollo de la MT / MCA y construcción de la capacidad política, económica y de recursos humanos.

2. Seguridad, eficacia y calidad

- ❖ Falta de metodología de investigación.
- ❖ Inadecuada base de evidencias para las terapias y productos de MT/ MCA.
- ❖ Falta de pautas internacionales y nacionales para asegurar la seguridad, eficacia y control de calidad de las terapias y productos de MT /MCA.
- ❖ Falta de normatividad y registros adecuadas de las medicinas con base de hierbas.
- ❖ Falta de registro de los proveedores de MT / MCA.
- ❖ Inadecuado apoyo para la investigación.

3. Acceso

- ❖ Falta de datos que midan los niveles de acceso y la asequibilidad.

- ❖ Necesidad de identificar terapias y productos seguros y eficaces.
- ❖ Falta de reconocimiento oficial del papel de los proveedores de MT / MCA.
- ❖ Falta de cooperación entre los suministradores de MT / MCA y los médicos alopáticos.
- ❖ Uso no sostenible de los recursos de plantas medicinales.

4. Uso racional

- ❖ Falta de formación de los proveedores de MT / MCA y falta de información sobre MT / MCA para los médicos alopáticos.
- ❖ Falta de comunicación de MT / MCA y los médicos alopáticos y entre los médicos alopáticos y los consumidores.
- ❖ Falta de información al público sobre el uso racional de MT / MCA.

Constituye una tarea titánica el resolver los puntos citados anteriormente por lo que la ONU ha conseguido que participen activamente diversas organizaciones que a continuación se mencionan (6):

Organizaciones internacionales:

- ❖ La Secretaría de la Commonwealth
- ❖ La Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos
- ❖ La Cooperativa Científica Europea sobre Fitoterapia
- ❖ La Unión Europea
- ❖ El Banco Mundial
- ❖ La Organización Mundial de Comercio

Organizaciones no gubernamentales:

- ❖ La Colaboración Cochrane
- ❖ Fundación Ford
- ❖ Foro Mundial para la Naturaleza

Asociaciones profesionales globales:

- ❖ *Liga Medicorum Homeopática Internationalis*
- ❖ Federación Mundial de Acupuntura
- ❖ Federación Mundial de Quiropráctica
- ❖ Industria Mundial de Automedicación

(6) OMS, Situación reglamentaria de los medicamentos. Una reseña mundial. 2000, pp 39-45.

Los objetivos que se buscan con las estrategias y plan de acción de la ONU al respaldar a los países miembros son:

- ❖ Integrar la MT / MCA en los sistemas de salud nacionales, según sea apropiado mediante el desarrollo e implantación de políticas y programas nacionales de MT / MCA .
- ❖ Fomentar la seguridad, la eficacia y la calidad de la MT / MCA y proporcionar asesoría sobre pautas normativas y controles de calidad.
- ❖ Aumentar la disponibilidad y asequibilidad de la MT / MCA, según sea apropiado, enfatizando el acceso a la misma de las poblaciones pobres.
- ❖ Fomentar el uso terapéutico sólido y apropiado de la MT / MCA, informar a los proveedores y consumidores acerca del alcance y limitaciones, sustentados en estudios confiables de riesgo-beneficio.

En nuestro país existen numerosos antecedentes donde el esfuerzo por sustentar y reconocer de manera formal el uso de la flora medicinal, como las “Tablas Botánicas para el uso más pronto y fácil” por la Academia Médico Quirúrgica de Puebla y el “Estudio de la Ciencia” de Julián Cervantes en 1825, posteriormente un “Ensayo para la Materia Medica Mexicana” en 1832 como un antecedente más sólido de la Farmacopea.

La Academia Farmacéutica de la Ciudad de México (fundada en 1838), elaboró la primera edición de la Farmacopea Mexicana en 1846, contenía exclusivamente sustancias de origen vegetal. Al desaparecer se fundó la Sociedad Farmacéutica Mexicana y se publicó la segunda edición de la Farmacopea Mexicana, siendo hasta la cuarta edición en 1896 cuando adquiere su carácter obligatorio en los Estados de Baja California, Distrito Federal y Tepic, contenía químicos aislados y 497 especies vegetales.

En 1930 apareció la primera edición de la Farmacopea Nacional producida por el Departamento de Salud Pública, de uso obligatorio en toda la República, en la segunda edición, en 1952, se suprimieron monografías de productos naturales y plantas medicinales siendo menor la proporción de productos naturales que productos químicos, tal exclusión se debió a las dificultades metodológicas para el control de calidad de los productos, no porque consideraran que no tuvieran eficacia terapéutica.

En la quinta edición de la Farmacopea Nacional, de los 532 productos que incluye, solo 34 proceden de plantas, estos comprenden: aceites fijos y algunos excipientes; se observa una tendencia a disminuir progresivamente en las ediciones posteriores el número de productos de origen herbolario.

La Secretaría de Salud con objeto de fomentar la regulación sanitaria y establecer lineamientos oficiales del control de calidad de plantas y derivados de ellas, publicó la primera edición de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos en el año 2002.

En la Ley General de Salud mexicana, desde el 7 de mayo de 1997 está reconocida la existencia de medicamentos y remedios herbolarios. (Arts: 224 . Fracción B).

En el *Reglamento de Insumos para la Salud*, se regula y define, sobre el registro, elaboración, envasado, publicidad y establecimientos de los medicamentos homeopáticos, medicamentos herbolarios y remedios herbolarios. (Arts. 63, 64, 65, 66, 67, 68, 71, 88, 89, 91, 92, 93, 94, 97, 98, 129, 130, 140, 173, 174, 175).

En 1999, se publicó, en el Diario Oficial de la Federación, un listado que prohíbe el empleo de 76 plantas en infusiones, decocciones o suplementos alimenticios, cuyo empleo puede resultar nocivo para la salud; restringe, además, el empleo de 9 plantas en el embarazo .

Es competencia de la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), regular la herbolaria, por medio del Departamento de evaluación de herbolarios, homeopáticos y medicamentos herbolarios, y área de dispositivos médicos.

La regulación sanitaria permite que los productos industrializados a base de plantas puedan ser medicamentos si existe una evidencia clínica comprobada. Se considera como remedios herbolarios solamente aquellos que se apoyan en el conocimiento popular o tradicional y se emplean como auxiliares sintomáticos y los suplementos alimenticios que completan o incrementan la alimentación.

Al revisar otras Farmacopeas con una tradición incluyente de productos naturales y plantas, como la Farmacopea Alemana, la Farmacopea Francesa y la Farmacopea de la Comunidad Europea, podemos observar que existe una gran diferencia en cuanto al número de monografías de productos naturales que incluye cada publicación :

Farmacopea	Monografías referentes de productos naturales o plantas
Alemana (DBA 10)	127
Francesa	1400
Comunidad Europea	26

Fuente: Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos México 2002, p 40.

Esta diferencia tiene que ver con el proceso evolutivo que ha sufrido cada sistema sanitario. En general el ejemplo más evidente fue la conformación del proyecto de la Farmacopea Europea, a partir del convenio de Estrasburgo el 22 de junio de 1964 como respuesta a la necesidad de libre circulación de medicamentos en Europa, ya sea a nivel de sanidad pública o de intercambios internacionales.

Ésta libre circulación requiere la unificación de las normas relativas a la fabricación y al control de calidad de los productos farmacéuticos e implica la normalización de las farmacopeas nacionales, que se concreta con la elaboración de la Farmacopea Europea publicada por primera vez en 1994 y es adoptada por los Gobiernos del Reino de Bélgica, República Francesa, República Federal Alemana, República Italiana, Gran Ducado de Luxemburgo, del Reino de los Países Bajos, de la Confederación Helvética y del Reino Unido de Gran Bretaña e Irlanda del Norte, en la actualidad es de cumplimiento obligado para 26 países europeos.

Sin embargo la inclusión de monografías de productos naturales o plantas en la Farmacopea Europea y la velocidad de inclusión de nuevas monografías es claramente insuficiente con respecto a la cantidad de productos que se comercializan y se usan; simplemente datos de la Comunidad Europea reportan que los países miembros utilizan una variedad de 1200 especies vegetales de las que solo 26 están incluidas en la Farmacopea Europea; la problemática de elaboración de monografías no solo se concreta al establecimiento de métodos y técnicas analíticas apropiadas y validadas sino también a los intereses por estandarizar, primero, la calidad de los productos de mayor proyección internacional sobre aquellos que solo tienen ingerencia nacional o regional.

Constituye entonces un reto para los sistemas de salud, tanto internacionales como nacionales y por consiguiente para los profesionales sanitarios implementar los mecanismos necesarios y los procedimientos metodológicos que permitan garantizar la calidad, seguridad, eficacia de los productos naturales y plantas, ya que el uso rebasa a los existentes y / o regulados.

II. 3 Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

Reino : Plantae
División : Magnoliophyta
Clase: Magnoliopsida
Orden: Malvales
Familia: Malvaceae
Género : *Hibiscus*
Especie: *sabdariffa* L

Descripción

Hibiscus sabdariffa L. pertenece a la Familia Malvaceae. Las diferentes variedades existentes son: *altissima* Wester, *sabdariffa*, H., *acetosella* Welw.

La variedad *altísima* es de importancia económica en India, las Indias Orientales y Nigeria ya que se extrae una fibra parecida al yute, los tallos de esta variedad son verdes o rojos, las hojas verdes, a veces con las venas rojas, sus flores son amarillas con cálices rojos o verdes, no carnosos y espinosos.

De la variedad *sabdariffa* H. se han descrito las siguientes subvariedades : *bhagalpuriensi*, *intermedius*, *albus*, *ruber*, la primera tiene cálices rojos con rayas, la segunda y tercera de las cuales se obtiene fibra, tienen cálices amarillo verdosos, sin embargo es la subvariedad *ruber* la que tiene empleo comestible por ser la menos fibrosa.

La variedad *acetosella* Welw es un arbusto de África tropical, de tallos y hojas rojas con flores de color rojo oscuro, alcanza una altura de 2.4 m, de empleo ornamental por la presencia de una vaina cabelluda, generalmente no se ha relacionado con la flor de jamaica por sus características específicas, además el cáliz no es carnoso y las hojas son las empleadas en la cocina debido a su sabor ácido, al adicionarlas al arroz o verduras.

El *H. sabdariffa* variedad *sabdariffa* H. subvariedad *ruber*, es un arbusto de cultivo anual de 2,4 m, de tallos altos cilíndricos de color rojo, hojas alternadas de 7,5 a 12,5 cm de largo, verdes con venas rojizas y los pecíolos largos o cortos. Las flores nacen en el axis de la hojas son de aproximadamente 12,5 cm, con pétalos de 4 a 5 cm de longitud, de color amarillo con una mancha púrpura en la base. Columna estaminal poco saliente. El cáliz formado por 5 sépalos en forma de lengüetas, tiene una longitud de 2 – 3,5 hasta 5 cm; se encuentra fusionado a un cálculo exterior multífido que comprende de 8 a 12 láminas pequeñas con una longitud de 6 - 15 mm, agudas y más oscuras. El fruto es capsular ovoide de longitud de 1 a 2 cm de largo más pequeño que el cáliz, cubierto de un vello espeso y fino.

Los nombres referidos de flor de jamaica y flores del Hibisco, generalmente son incorrectos ya que lo que se encuentra en el mercado en venta son los cálices mezclados con una muy mínima proporción de flores o frutos, por lo que en realidad son los cálices a los que se atribuyen las propiedades medicinales.

El *H. sabdariffa* es nativo de India y Malasia donde es normalmente cultivado, y se debe haber llevado a África, Egipto, Burkina Faso, Mali, Níger y Ciad. Ha sido extensamente distribuido en los Trópicos y Subtrópicos de ambos hemisferios, Sudán, Tailandia, México y Senegal. En muchas áreas del Oeste de la India y Centroamérica se ha naturalizado.

Se introdujo a México en la época colonial y desde entonces se ha cultivado en regiones cálidas y semicálidas de nuestro país, siendo los estados de Guerrero, Oaxaca, Colima y Campeche, los principales productores de jamaica.

Nombre comunes	País
Abuya, Ibuya, Inkulu, Nsa	Congo
Baquitché, Cutcha, Folere,	Guinea- Bissau
Basap, Bisap, Bondio, Dakouma, Fasab,	Senegal
Indian sorrel, Kuges, Red sorrel, Roselle hemp,	
Roselle, Senegal bisap,	
Gogu, Lal ambari, Patwa, Red sorrel; Roselle	India
Hamaiga	Nicaragua
Hibicusblüten, Jericó rose	Alemania
Karkade, Red sorrel	Egipto, Alemania,
Karkade	Italia,
	Somalia
Karkadeh	Sudan
Karkadesh, Rosella, Roselle	Egipto
Krachiap daeng, Roxella- red sorrel	Tailandia
Mesta	Bangla Desh
Rosa de Jamaica	Guatemala
Roselle	Iraq, Japón
Roselle, Flor de jamaica	México
Satui, Sawa sawa	Sierra Leona
Sudan tea	África Oriental
Susur	Indonesia

Constituyentes químicos de la flor de jamaica ⁽⁶⁾

Constituyentes reportados en cantidades no cuantificadas	Constituyentes reportados en cantidades cuantificadas
Ácido aspártico	Ácido ascórbico 0.01-0.11 %
Ácido caprílico	Ácido cítrico 3.74-17.00 %
Ácido glicólico	Ácido hibiscus 1.5 - 2.3 %
Ácido oxálico	Ácido málico 6.5 %
Ácido protocatechuico	Agua 84.5- 88.2 %
Ácido utalónico	Antocianinas 1.5%
Aluminio	Cenizas 0.6-7.7 %
Alcohol bencílico	Beta caroteno 0 -21 ppm
Betasitosterol	Calcio 0.11-1.74 %
Campesterol	Carbohidratos 9.20-76.50 %
Cromo	Celulosa 16.8 %
Crisantemin	Colesterol 5.1 % esterol
Cianidin-3- sambubiósido	Cis-12,13-epoxi-cis-9-acido octadecenoico 4.5% de lípidos
Cianidina	
Delfinidina	Grasas 0.1- 0.11 %
Delfinidin-3- glucósido	Fibra 1.0- 14.8 %
Delfinidin-3- sambubiósido	Fósforo 180- 4,348 ppm
Gossipetina	Hierro 1- 536 ppm
Gossipetin-3-glucósido	Magnesio 0.224 %
Hibiscetina	Manganeso 0.151 %
Hibiscin	Niacina 71 ppm
Hibiscretin	Pectina 1.02 %
Malvin	Potasio 0.94 %
Mucílago	Proteína 7.0 – 11.0 %
Mirtilin	Riboflavina 0- 4 %
Resina	Sacarosa 0.24 %
Sabdaretin	Tiamina 0-3 ppm
Sabdaritrin	
Selenio	
Silicio	
Sodio	
Zinc	

(6) Ivan A. Ros, Medicinal Plants of the World Chemical Constituents, Totowa New Jersey 1999, pp 166-167

***Hibiscus sabdariffa* en la Medicina Tradicional Mundial ⁽⁷⁾**

En la siguiente tabla se muestran sus usos en la Medicina Tradicional en diferentes países:

País	Usos
África	El extracto acuoso de las semillas como diurético y tónico. El aceite de las semillas es usado externamente para curar las heridas de camellos.
Brasil	El extracto acuoso de los tallos es empleado para aliviar el dolor de estómago y aplicado externamente en la piel, es emoliente.
Camerún	La infusión de las hojas es utilizada como antihelmíntico.
Congo	El extracto de las hojas es utilizado por la acción laxante.
África oriental	Por sus propiedades ácidas es empleado como agente saborizante. Al extracto acuoso se atribuyen las propiedades siguientes: diurético, colerético, agente hipotensor, disminuye la viscosidad de la sangre.
Egipto	El extracto acuoso caliente es ingerido para aliviar las enfermedades del corazón, nervios, laxante, reductor de peso, activar y neutralizar la secreción gástrica, arterioesclerosis, antiséptico intestinal, diaforético, tratamiento del cáncer.
Guatemala	La infusión de los cálices es ingerida con fines diuréticos y de disminuir la inflamación renal.
Guinea Bissau	Las semillas son ingeridas por los varones con fines afrodisíacos.
India	Al extracto de las hojas se le atribuye actividad diurética, hipotensor, disminución de la viscosidad de la sangre, estimulación de la peristalsis intestinal; el extracto de las semillas es utilizado en casos de disuria, dispepsia y tónico.
México	El extracto caliente de las hojas y cálices es ingerido con fines diuréticos, colerético, hipotensor, para disminuir la viscosidad de la sangre y estimulante de la peristalsis intestinal. Bebida refrescante.
Senegal	El extracto de las hojas aplicado externamente se emplea en la curación de heridas. El extracto de las flores es ingerido para combatir la fatiga, agente hipotensor, colagogo, para combatir la indigestión, diaforético, diurético.
Sierra Leona	El concentrado de las hojas es tomado para el tratamiento de hemorragias posparto, contracciones uterinas y diurético.
Sudán	El extracto de las flores se ingiere como purificador de la sangre y tratamiento de la tos.
Tailandia	El extracto de los cálices es tomado como bebida refrescante.

(7) Ivan A. Ross, *Opus cit.* p. 166

I. 4 Investigación médica de la Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) ⁽⁸⁾

A continuación se muestran los datos reportados sobre los experimentos y algunos reportes clínicos sobre los efectos que se han estudiado:

Actividad o efecto	Dosis
Inhibición de la fosfatasa ácida e inhibición de la fosfatasa alcalina	Infusión del cáliz al 10,0% incluida en cada ración de la dieta de ratas.
Antihelmíntico	Se probó el extracto etanólico (95%) a una concentración de 50,0 mg/ mL y resultó inactivo contra <i>Lumbricus terrestris</i> .
Antibacterial	El aceite de la semilla en platos de agar ha demostrado la acción bactericida contra <i>Bacillus anthracis</i> , <i>Staphylococcus albus</i> mientras que no es activo para <i>Proteus vulgaris</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .
Antiinflamatorio	Aplicación tópica del extracto metanólico de las flores a dosis de 2,0 mg / oreja en ratón contrarrestó el efecto del TPA inductor de inflamación.
Antifúngico	Extracto etanol : agua (1:1) a una concentración de 250,0 mg/mL en platos de agar, es activo contra <i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Botrytis cinerea</i> , <i>Penicillium digitatum</i> , <i>Rhizopus nigricans</i> , <i>Trichophyton mentagrophytes</i> . A dosis de 10,0 g/L aún cuando es inactivo frente a <i>Aspergillus flavus</i> disminuye la cantidad de aflatoxina.
Antihipercolesterolémico Antihiperlipémico Antihipertrigliceridémico	Infusión del cáliz a una concentración de 5,0% en cada comida, disminuyó los niveles de colesterol en sangre de ratas.
Antiquistosomiasis	Extracto de hojas a una concentración de 10,000 ppm es activo contra <i>Schistosoma mansoni</i> y el extracto de los sépalos a una concentración de 100,0 ppm también es activo contra <i>Schistosoma mansoni</i> .
Antiaflatoxina	Infusión de las flores a una dosis de 1,0 mg / L en cultivo líquido es activo contra la aflatoxina de <i>Aspergillus flavus</i> .
Antiviral	Infusión de las flores a una concentración del 10,0% en cultivo celular es activo contra el herpes virus, tipo 2.

Actividad o efecto (continuación)	Dosis
Antilevadura	Extracto etanol : agua (1:1) a una concentración de 250,0 mg / mL en platos de agar es activo contra <i>Saccharomyces pastorianus</i> .
Disminuye los niveles de creatinina	Infusión de la fruta y jugo administrada a dosis de 24,0 g / día .
Colerético	Infusión de las flores en humanos varones adultos es activa.
Citotóxico	Extracto de flores etanol (70%) en cultivo celular en CA-Erlich-Ascites, el efecto mayor se observa a las 24 horas de exposición.
Diurético	Infusión a dosis de 1,0 g / kg produce una fuerte actividad. En adultos humanos el extracto produce buen efecto.
Estrogénico	Infusión de cáliz intraperitonealmente a dosis de 500 mg / kg es activo en ratas hembras.
Genitourinaria	Infusión de la fruta administrada oralmente a dosis de 24 g / día disminuye los niveles urinarios de sodio, potasio, fosfatos, ácido úrico y calcio.
Inhibición de la transaminasa glutamato-oxalacética	Infusión del cáliz al 10,0%. en cada ración en ratas.
Inhibición de la transaminasa glutamato-piruvato	Infusión del cáliz al 10,0%. en cada ración en ratas.
Hipotensor	Extracto del cáliz en etanol (95%) administrado intravenoso en perros a dosis de 200 mg / kg. La infusión del cáliz en gatos administrada a dosis de 25,0 mg / animal.
Inhibición de la motilidad intestinal	Extracto acuoso del cáliz a perros a dosis de 5,0% es activo.
Actividad mutagénica	El extracto del fruto en platos de agar a una concentración de 50,0 µg / plato tiene actividad en <i>Salmonella thyphimurium</i> TA 100 y TA98.
Relajante del músculo liso	El extracto de pétalos es activo en la aorta de ratas IC ₅₀ a dosis de 0,53 mg/ mL.
Espasmogénico	El extracto acuoso del cáliz a una concentración de 0,4 mg / mL tiene actividad en el músculo recto abdominal de la rana; a 1,0 mg / mL en útero de conejo y a 0,16 % en íleo de conejo.

Actividad o efecto (continuación)	Dosis
Espasmolítico	Extracto acuoso del cáliz a una concentración de 0,4 mg / mL, tiene actividad en el músculo recto abdominal de la rana; a dosis de 5,0 mg / mL fue activo en traquea de cerdo de Guinea; a dosis de 10,0 mg / mL es activo en el diafragma de ratas. EL extracto de los pétalos a concentración de 0,6 mg / mL es activo en aorta de ratas.
Laxante	El extracto acuoso de flores en humanos es activo.
Disminución de la cantidad de urea	A una dosis de 1.0 g / kg presenta la actividad.
Relajación del útero	El extracto acuoso de las flores es activo en el útero de ratas.

Las diferentes acciones farmacológicas reportadas en la medicina tradicional se han investigado detenidamente, además se han probado otras propiedades farmacológicas, el hecho es que aparecen indexados en un periodo de septiembre de 1999 a junio de 2006, 58 artículos, entre los que destacan propiedades farmacológicas de carácter novedoso como las siguientes:

- ❖ Efecto protector hepático ⁽⁹⁾,
- ❖ Inductor de apoptosis ^(10,11),
- ❖ Estimulante de proliferación celular ⁽¹²⁾ .

Otros autores se han interesado ya en estudiar las propiedades fisicoquímicas y toxicológicas de los cálices de la flor de jamaica aportando al área aspectos como:

- ❖ Estabilidad térmica de las antocianinas de *Hibiscus sabdariffa* L. tanto en estado sólido como en solución ⁽¹³⁾ .
- ❖ Toxicidad del extracto acuoso y metánolico ⁽¹⁴⁾ .
- ❖ Características fisicoquímicas de *Hibiscus sabdariffa* L. ⁽¹⁵⁾.
- ❖ Degradación de antocianinas ⁽¹⁶⁾ .

Seguridad y toxicidad de *Hibiscus sabdariffa* .^(17, 18)

Los extractos de la planta se caracterizan por tener una baja toxicidad, sin embargo ha sido importante determinar parámetros toxicológicos que permitan garantizar la seguridad para las personas que lo consuman.

El extracto del cáliz en agua caliente, administrado en conejos por intubación gástrica, tiene una DL₅₀ de 129 g / kg.

En ratas se ha reportado una DL₅₀ de 5000 mg / kg. Solo se ha reportado un efecto nocivo en testículos de ratas después de un consumo del extracto del cáliz por largos periodos.

III. ANÁLISIS Y JUSTIFICACIÓN DE LAS EXIGENCIAS FARMACOPÉICAS EN EL ANÁLISIS DE FLOR DE JAMAICA

Se describe la importancia de cada una de las pruebas farmacopéicas en el análisis de Flor de Jamaica.

La exigencia farmacopéica para la materia prima herbolaria Flor de Jamaica descrita en la Monografía publicada en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM), menciona como requerimiento aplicar las determinaciones siguientes:

- a) Descripción macroscópica
- b) Descripción microscópica
- c) Ensayo de identidad
- d) Materia extraña
- e) Pérdida por secado
- f) Cenizas totales
- g) Material extraíble
- h) Valoración

Como requisito general para todas las materias primas que aparecen en la publicación, se debe cumplir las exigencias de las siguientes determinaciones:

- ❖ Metales pesados
- ❖ Plaguicidas
- ❖ Determinación de microorganismos
- ❖ Materia extraña

Dentro de las publicaciones internacionales se encuentra la Farmacopea de los Estados Unidos (USP), las pruebas analíticas para los productos de origen botánico no son considerados en una monografía particular , sino en apéndices, de manera general son las siguientes ⁽¹⁹⁾ :

- Identificación de productos de origen botánico <563>
- Artículos de origen botánico <561>
 - Materia extraña
 - Cenizas totales
 - Cenizas insolubles en ácidos
 - Cenizas solubles en agua
 - Extracto soluble en alcohol
 - Extracto soluble en agua
 - Fibra cruda
 - Contenido de almidón
 - Determinación de aceite volátiles
 - Contenido de agua
 - Prueba de aflatoxinas
 - Análisis de residuos de pesticidas
 - Pesticidas

En el cuadro que aparece a continuación se comparan las pruebas requeridas en la FHEUM con otras publicaciones oficiales internacionales, donde aparece la Monografía de la materia prima Flor de Jamaica :

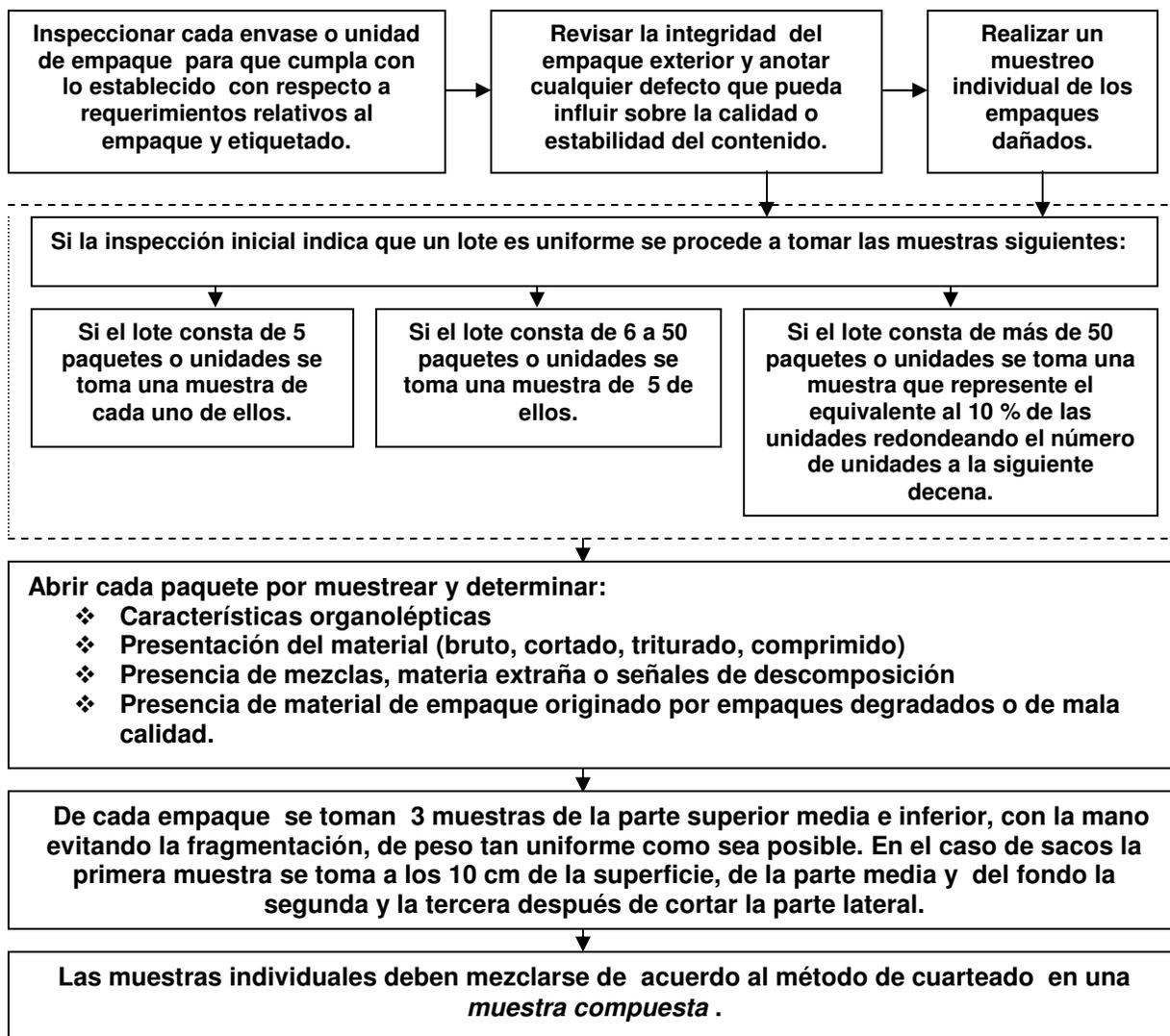
Publicación	Pruebas Analíticas requeridas
Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos 1ª Edición 2001 ⁽²⁰⁾ Monografía Jamaica, Flor	Identidad a) Macroscópica y Microscópica b) Cromatografía en capa fina Materia Extraña (No más del 2,0 %) Material Extraíble (No es inferior al 40,0%) Pérdida por secado (No es superior al 15,0%) Cenizas totales (No es superior al 12,0 %) Valoración (No menos de 13,5 % de ácidos orgánicos, calculados como ácido cítrico)
Farmacopea Francesa 10ª Edición 1989 ⁽²¹⁾ Monografía Karkadé	Identidad a) Macroscópica y Microscópica b) Cromatografía en capa fina Materia Extraña (No más del 2,0 %) Material Extraíble (No es inferior al 40,0%) Pérdida al secado (No es superior al 15,0%) Cenizas totales (No es superior al 12,0 %) Valoración (No menos de 13,5 % de ácidos orgánicos, calculados como ácido cítrico)
Farmacopea Alemana 1990 (DBA 10) ⁽²²⁾ Monografía Red sorrel flower	Identidad a) Macroscópica y Microscópica b) Cromatografía en capa fina Materia Extraña (No más de 2 %) Pérdida al secado (No más de 10,0 %) Cenizas (No más de 10,0 %) Color de la solución Valoración (No menor 13,5 %,calculado como ácido cítrico)
Farmacopea Europea 4ª Edición 2001 ⁽²³⁾ Monografía Roselle	Identificación a) Macroscópica y Microscópica b) Cromatografía en capa fina Materia Extraña (Máximo 2 %) Pérdida al secado (Máximo 11,0 %) Cenizas totales (Máximo 10,0 %) Color de la solución Valoración (Máximo 13,5 % ácidos, expresados como ácido cítrico)

Se puede observar una exigencia similar entre la Farmacopea Herbolaria Mexicana y la Farmacopea Francesa y con respecto a la Farmacopea Alemana disminuye la exigencia en cuanto a la Materia Extraña pero se incrementa en las Pruebas de Pérdida al secado y Cenizas totales, además mientras que en las dos primeras referencias aparece la prueba de Material extraíble, en las siguientes no aparece esta prueba pero incluyen la prueba Color de la solución.

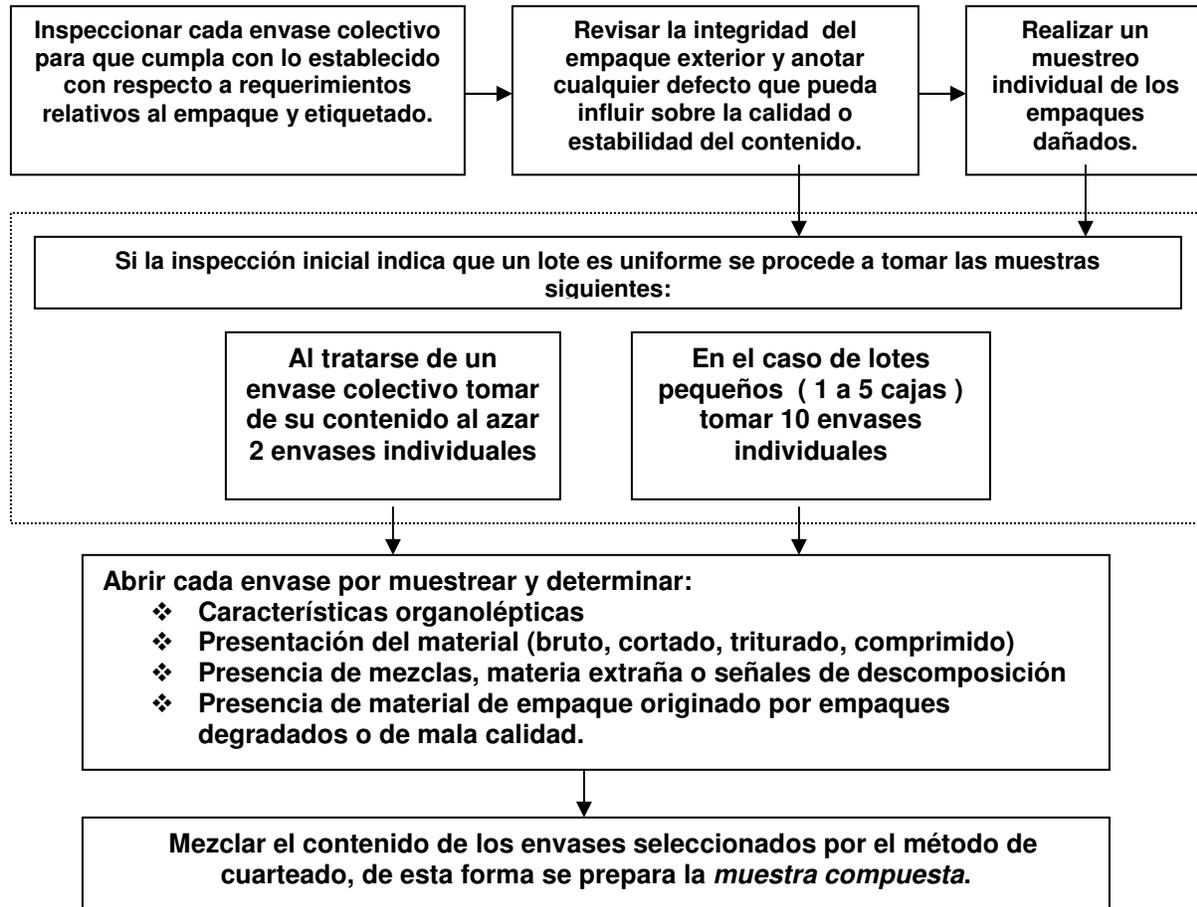
Debido a que los materiales procedentes de plantas medicinales tienen características particulares, la homogeneidad representa un problema importante, se deben seguir recomendaciones generales para el proceso de muestreo como lo marca la FHEUM y el documento emitido por OMS "Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials"⁽²⁴⁾, donde se indica el proceso de muestreo del material a granel y el material que se encuentra en envases al menudeo.

Los siguientes diagramas simplifican los procesos de muestreo :

Muestreo del material a granel



Muestreo de material en envases individuales, contenidos en envases colectivos:



La muestra analítica, es el material destinado al análisis, se obtiene por el método de cuarteado de la muestra compuesta.

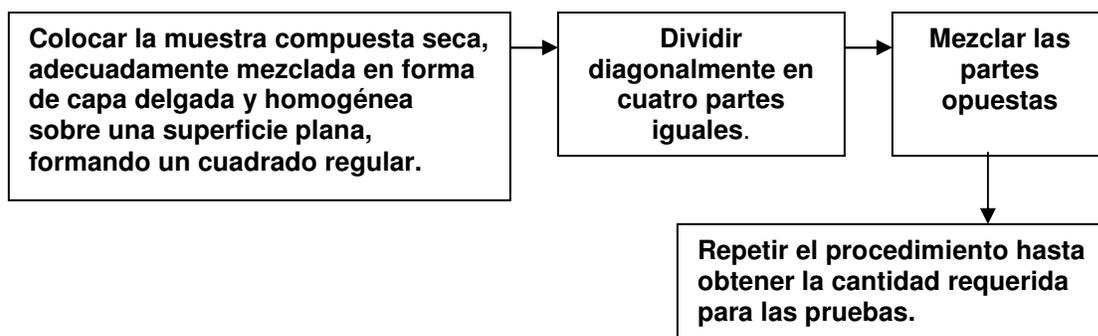
La muestra compuesta para fines de mejor conservación, debe secarse hasta que la cantidad de agua se encuentre dentro de los límites permisibles.

Una vez obtenida la muestra compuesta seca, hay que garantizar que sea almacenada en condiciones específicas que eviten la contaminación y degradación. Los factores que influyen de manera determinante son: el envase, la luz, la temperatura y la humedad.

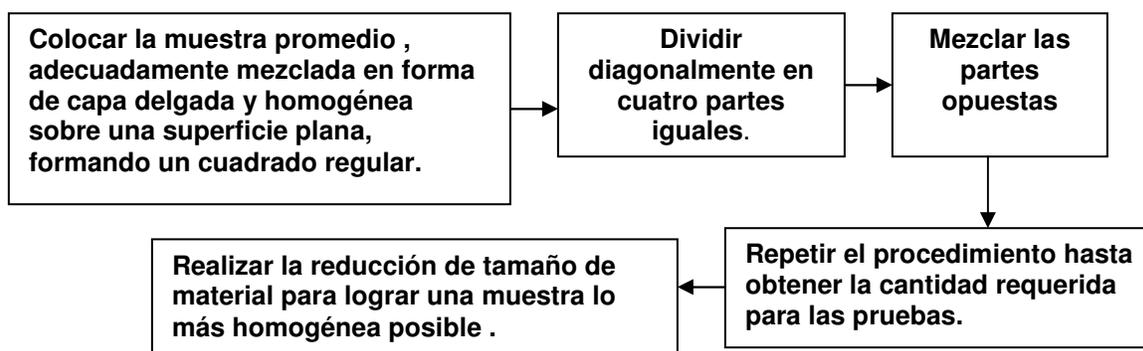
El envase debe ser químicamente inerte, se emplean envases cerrados o herméticamente cerrados dependiendo de las necesidades de almacenamiento, deben proteger de la luz o bien colocar una cubierta que lo proteja de la luz o almacenarse en un lugar oscuro. Se deben evitar las temperaturas extremas y la humedad debe ser baja, en caso necesario se empleará algún agente desecante.

De acuerdo a las características que se evalúan en las pruebas analíticas del material herbario se requiere obtener primero la muestra promedio y a partir de ella la muestra de prueba, ambas conforman la muestra analítica. Se obtienen de acuerdo a los siguientes diagramas:

Muestra promedio (laboratory sample)



Muestra de prueba (test sample)



En la muestra promedio el material herbario mantiene el tamaño original, por lo que permite evaluar de la materia prima Flor de Jamaica: la Descripción macroscópica y Materia extraña, hay que aclarar que en este punto no se puede hablar de tener homogeneidad en la muestra, el caso del análisis de materiales heterogéneos, como son los productos vegetales es difícil de alcanzar la homogeneidad, pero lo que si se debe alcanzar es la mayor uniformidad posible.

La muestra de prueba debido a la reducción de tamaño permite alcanzar cierto grado de homogeneidad, tener menor variabilidad en el análisis debida a la calidad de la muestra y mayor confiabilidad en la evaluación de las pruebas : Descripción microscópica, Ensayo de identidad, Pérdida por secado, Cenizas totales, Material extraíble y Valoración.

En algunos casos el material herbario requiere de procedimientos de muestreo más rigurosos, los cuales deberán validarse previamente, antes de pasar a la etapa analítica.

A continuación se comenta acerca de cada una de las pruebas farmacopeicas requeridas en la Monografía de la Flor de Jamaica de FHEUM:

a) Descripción macroscópica ^(20,24)

El objetivo de la prueba es realizar un análisis sistemático de la morfología y anatomía de la planta para lograr un diagnóstico botánico. Generalmente los materiales provenientes de origen herbolario se clasifican de acuerdo a sus características sensoriales, macroscópicas, ya que es una parte esencial que aporta información acerca de la identidad, pureza y calidad.

Aún cuando en la actualidad no se cuenta con material herbario de referencia certificado, es recomendable contar con material de referencia de plantas y tejidos establecidos por botánicos taxonomistas, fitoquímicos, especialistas en anatomía de plantas, que permita comparar las muestras a analizar, sobre todo para realizar la diferenciación en el caso de las especies de características semejantes.

La convención de la Farmacopea de los Estados Unidos Americanos (USP), tiene en existencia Material de Referencia Certificado de algunas especies de la etapa madura de la planta, otra fuente auxiliar son los herbarios donde se tiene en existencia partes de la planta como tallo, raíz, hojas, semillas, flores, frutas; en México, el servicio de identificación botánica se realiza en varios herbarios, principalmente:

- ❖ Herbario Nacional del Instituto Nacional de Biología
- ❖ Herbario de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas
- ❖ Herbario de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala
- ❖ Herbario de la Coordinación de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social
- ❖ Herbario del Instituto de Ecología
- ❖ Herbario de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco
- ❖ Herbario de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León
- ❖ Herbario de la Escuela de Biología de la Universidad Michoacana de San Nicolás Hidalgo
- ❖ Herbario Departamento de Botánica de la Universidad Autónoma de Guadalajara
- ❖ Herbario Escuela Superior de Ciencias Marinas
- ❖ Herbario del Centro Interdisciplinario de Investigación para el desarrollo Integral Regional
- ❖ Herbario de la División de Ciencias Forestales de la Universidad Autónoma de Chapingo
- ❖ Herbario del INEGI

En el caso de la materia prima Flor de Jamaica la estructura primordial es la flor, además de ser un criterio principal para la clasificación taxonómica de plantas en general. La inspección es dirigida a localizar presencia, color, tamaño y número de los componentes de la flor como pétalos, sépalos y cálculo.

La prueba que se describe en la FHEUM consiste en identificar la flor, cáliz y cálculo de color rosa a rojo profundo; el cáliz formado por 5 sépalos en forma de lengüetas, cálculo exterior multífido, sépalos carnosos con tamaño variable que va de 2 cm hasta 5 cm de largo, libres o asociados; el cálculo pequeño con laminas pequeñas agudas y oscuras en la base de los sépalos. Las flores son inodoras y con sabor fuertemente ácido.

b) Descripción microscópica ^(19, 20, 21,24)

Una vez que la muestra ha sido caracterizada macroscópicamente el siguiente paso es el examen microscópico. Cuando no es posible realizar la identificación macroscópica por que se encuentre el material herbario triturado o en polvo el examen microscópico se convierte en una herramienta importante y fundamental para caracterizarlo, acompañado de pruebas que incluyan el análisis de sus propiedades fisicoquímicas.

Durante la prueba para observar las estructuras a través del microscopio, la muestra seleccionada debe ser delgada y se debe retirar el exceso del colorante natural para permitir que el haz de luz pase a través de la muestra.

Las estructuras por observar son : tricomas fusiformes, largos, incoloros de pared gruesa, pelos flexuosos, incoloros, contorneados, aislados o en pares, fragmentos de parénquima de color gris con numerosas maclas de oxalato de calcio, pero también puede observarse maclas de oxalato de calcio aisladas y granos de polen equinulados.

El proceso de preparación de la muestra descrita en la monografía emplea como agente clarificante la Solución de Prueba de Hidrato de Cloral. Las propiedades de la solución radican en: el índice de refracción (n_D^{20} :1,44 a 1,48), ya que si difiere del índice de refracción del material por analizar, este se vuelve evidente, además expande tejidos colapsados sin lesionar las paredes celulares o distorsionar los tejidos, es el mejor reactivo para lograr poner en evidencia las maclas de oxalato de calcio ya que tiene poca capacidad para disolver el oxalato de calcio. Sin embargo la adquisición del reactivo analítico de Hidrato de cloral para preparar la solución de prueba se limita por ser considerada en la Ley General de Salud como una sustancia psicotrópica de uso controlado. ⁽²⁵⁾

Otra posible opción para lograr observar las maclas de oxalato de calcio al no contar con la solución de prueba de Hidrato de cloral es ácido acético o la observación a la luz polarizada ya que se muestran birrefringentes.

(25) Artículo 245, Ley General de Salud, Secretaria de Salud, México 1984.

c) Ensayo de identidad ^(19, 23, 26)

La identificación química de las plantas se realiza frecuentemente por medio del análisis de un extracto de la planta por cromatografía en capa fina ya que además de ser una técnica confiable es fácil de realizar y no requiere de equipo costoso.

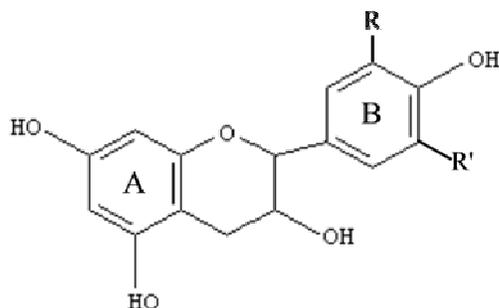
La cromatografía consiste en la separación de una mezcla de compuestos por distribución entre dos fases : una estacionaria y otra móvil; el método depende del fenómeno de superficie llamado adsorción donde interaccionan electrostáticamente los solutos, de acuerdo a su polaridad .

El fundamento de la cromatografía en capa fina es la separación por partición sólido-líquido donde intervienen el eluyente como fase móvil y el adsorbente como la fase estacionaria y se lleva a cabo la elusión en forma ascendente por capilaridad.

La prueba farmacopéica en FHEUM consiste en identificar antocianidinas componentes de la flor de jamaica como son la delfinidina y cianidina.

Las antocianinas son compuestos fenólicos pertenecen a los flavonoides, existen como glucósidos de polihidroxi/polimetoxi derivado de la sal, cuando el residuo de azúcar es hidrolizado de la antocianina, el resultado es la aglicona llamada antocianidina. Las antocianidinas más frecuentes de encontrar en los alimentos son: pelargonidina, cianidina, delfinidina, peonidina, malvidina y petunidina.

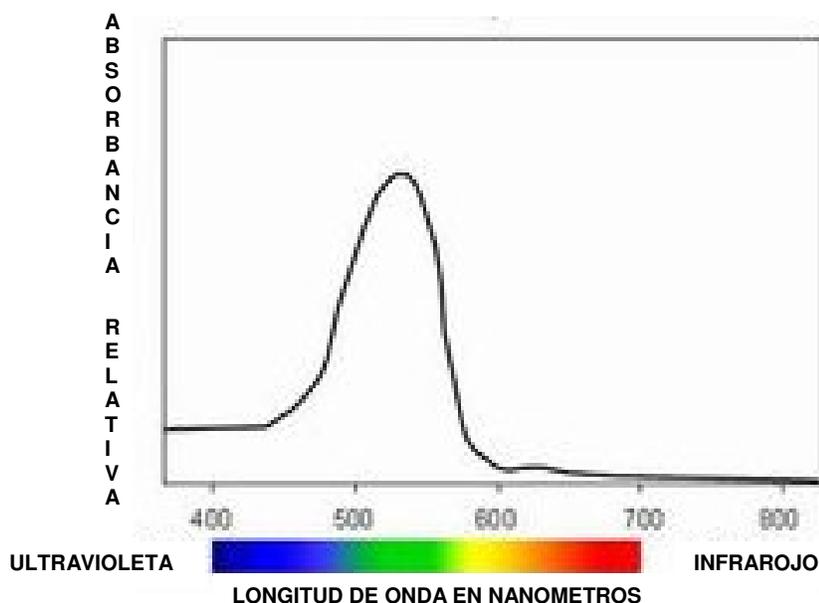
La estructura general de las antocianidina es la siguiente:



El color de las antocianinas a un pH determinado es función de los sustituyentes. Al aumentar el número de hidróxidos en el anillo B, se intensifica el color azul mientras que la presencia de grupos metoxilo (OCH₃) genera el color rojo.

Las antocianinas absorben la luz en las longitudes de onda azul-verde, mientras permite esparcir las longitudes de onda rojas por los tejidos de la planta, lo que hace a estos órganos visibles como color rojo.

A continuación se muestra el espectro de absorción de las antocianinas en la región visible (380 – 800 nm)

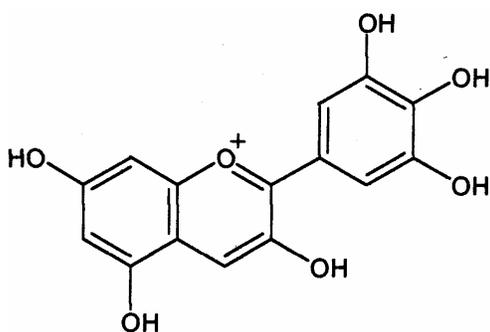


En particular la longitud de máxima absorción de las antocianidinas presentes en la flor de Jamaica es la siguiente:

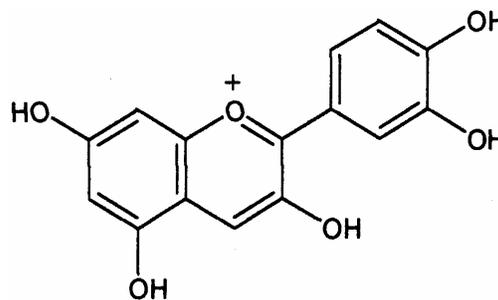
Aglicona	λ_{max} absorción (nm)
Cianidina	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	508 (azul-rojo)

Por lo que la evaluación del cromatograma se realiza empleando la luz del día.

A continuación se muestra la estructura química de las antocianidinas presentes en la flor de Jamaica:



Delfinidina ⁽³⁰⁾



Cianidina ⁽³⁰⁾

El procedimiento de forma general consiste en:

1. Preparar la fase estacionaria empleando celulosa como adsorbente sobre una placa de vidrio, secar al medio ambiente e impregnarla de ácido clorhídrico al 1,0 por ciento para activarla.
2. Preparar la fase móvil realizando una mezcla de butanol y ácido acético, se deja reposar y se emplea la fase superior.
3. Preparación de las soluciones de referencia denominadas **a** y **b**; la solución de referencia **a** se prepara con cloruro de delfinidina a una concentración final de 0,2 mg/mL; la solución **b** con cloruro de cianidina a una concentración de 0,2 mg/ mL en ambos casos se emplea como disolvente etanol.
4. Realizar la extracción de la muestra de jamaica pulverizada con ácido clorhídrico diluido (1:5), calentando por 30 minutos a reflujo en un baño de agua.
5. Después de enfriar, se realiza la separación de las antocianidinas del extracto acuoso empleando como fase orgánica alcohol isoamílico, en la fase orgánica se encuentran las antocianidinas delfinidina y cianidina.
6. En la cromatoplaaca se aplican en carriles separados las soluciones de referencia **a** , **b** y la fase orgánica del extracto. Desarrollar la cromatoplaaca hasta alcanzar un recorrido de 15 cm a partir del punto de aplicación.
7. La interpretación del cromatograma requiere identificar dos manchas que se asemejan en posición, coloración y tamaño con las soluciones de referencia **a** y **b**.

d) Materia extraña ^(20,24)

La materia extraña son las partes de la planta original o de cualquier otra planta diferente a la nombrada en la descripción o especificación, cualquier organismo parte o producto del mismo o la mezcla adicional de fragmentos minerales como pueden ser piedras, tierra, arena y polvo.

Por las condiciones de cultivo, recolección, secado, almacenamiento y transporte de los materiales herbarios en el mercado mexicano, no siempre se puede encontrar libres de materia extraña, la finalidad de la prueba es realizar la detección de la materia extraña para garantizar la pureza e inocuidad.

La prueba consiste en la búsqueda de materia extraña mediante el examen macroscópico de la muestra del material herbario extendida sobre una superficie, realizar un tamizaje de la muestra, el análisis microscópico del polvo y residuos

pequeños, seguido de la determinación del peso de cada una de las fracciones con una aproximación de 0,05 g.

Las plantas medicinales deben estar libres de contaminación por hongos, insectos, excremento, animales o restos de los mismos para garantizar la pureza e inocuidad en cuanto a materia extraña.

Algunas especies de hongos como *Aspergillus flavus*, en la muestra, pueden ocasionar la presencia de aflatoxinas; reviste gran importancia garantizar que el material herbario este libre de hongos ya que puede ocasionar intoxicación por la ingestión de las aflatoxinas en el ser humano.

La presencia de insectos, animales o partes de ellos y excremento son causa potencial de enfermedades transmisibles al ser humano, sin embargo la evaluación de los mismos durante la prueba requiere acompañarse en algunos casos de pruebas físicas y / o químicas para su caracterización.

Fragmentos minerales, tierra, polvo, arena y algunas fibras procedentes de los envases, son otro grupo de materia extraña que puede estar presente y convertirse en materia dañina al ingerirla el ser humano y también ocasionar dificultad al realizar la reducción de la muestra analítica, por lo que deben ser retirados tanto de la muestra como del universo del que proceden.

El material herbario no debe presentar olores anormales, decoloración o deterioro.

Con respecto a la presencia de fragmentos de plantas diferentes a la señalada en especificación de la descripción, existen especies capaces de ocasionar daños a la salud por lo que debe evitarse su consumo.

En México la Secretaría de Salud emitió en 1999 el acuerdo DOF 15-XII-1999⁽²⁶⁾, por el que se determinan las plantas prohibidas o permitidas para té, infusiones y aceites vegetales comestibles, donde se proporciona el listado de las plantas que pueden tener efectos tóxicos o implicar cualquier otro riesgo para la salud. Es necesario identificarlas claramente, y de ser encontradas formando parte de la materia extraña en el material herbario, ser reportadas, para cumplir así con la normatividad vigente.

La cantidad de materia extraña es la proporción de ésta por cada 100 g de muestra secada al aire.

e) Pérdida por secado^(20, 24)

La prueba de pérdida por secado, determina la presencia de agua y material volátil. La presencia de agua en el material herbolario condiciona la presencia de hongos, incremento de los microorganismos y el deterioro del material.

Para cada material herbolario existe una especificación determinada en cuanto al límite del contenido de agua, reviste mayor importancia y aumenta la exigencia en aquellos materiales que fácilmente absorben humedad.

Para la determinación es crucial el manejo de la muestra, es necesario tener especial cuidado en prepararla por corte o fragmentación sin llegar a pulverizar la muestra y se debe evitar el uso de molinos de alta velocidad que causen una pérdida apreciable de agua .

El tamaño del material de la muestra para la prueba no debe exceder de 3 mm, en el caso de semillas o frutos menores de 3 mm, deben fragmentarse para realizar una evaluación apropiada de la prueba .

La determinación pérdida por secado especificada para la Flor de Jamaica consiste en pesar exactamente una muestra, en un pesafiltros previamente seco y a peso constante, después secar la muestra en un horno a una temperatura de 100 °C a 105 °C, hasta que dos pesadas consecutivas no difieran por más de 0,5 mg. Se calcula la pérdida de peso en por ciento de material secado al aire.

f) Cenizas totales ^(20,24)

En el método de cenizas totales, al final del procedimiento se obtiene como resultado la cantidad de materia que queda después de la ignición , incluyendo las cenizas provenientes del tejido de las plantas y las que proceden de la materia extraña adherida a la planta.

Las cenizas totales son materia inorgánica que forma parte constituyente de la planta; es difícil determinarlas tal y como se presentan en el material herbario, la incineración pasa a destruir toda la materia orgánica, cambia su naturaleza, las sales metálicas de los ácidos orgánicos se convierten en óxidos o carbonatos, o reaccionan durante la incineración para formar fosfatos, sulfatos o haluros. Algunos elementos como el azufre y los halógenos pueden no ser completamente retenidos en las cenizas, pudiéndose volatilizar.

La calcinación debe efectuarse a una temperatura adecuada, que sea lo suficientemente alta como para que la materia orgánica se destruya totalmente, pero se tiene que observar que la temperatura no sea excesiva para evitar que los compuestos inorgánicos sufran alteración como fusión, descomposición y volatilización.

El procedimiento consiste en colocar una cantidad de muestra en un crisol previamente calcinado a peso constante, la cual es incinerada aumentando la temperatura gradualmente de 500° C a 600°C hasta que adquiere una coloración blanca que indica la ausencia de carbón, después enfriar en un desecador. De no obtenerse cenizas libres de carbón, se adiciona al crisol con muestra, una vez

enfriado, agua; si se adiciona agua se requiere secar en un baño de agua y después en una placa de calentamiento y calcinar hasta peso constante.

La cantidad de cenizas totales se calcula en por ciento con respecto al material herbario secado al aire.

g) Material extraíble ^(20,24)

El método de material extraíble, determina la cantidad de constituyentes activos capaces de ser extraídos con disolventes de una cantidad determinada de material herbario. Este método es empleado en casos para los que no existe una prueba biológica o química adecuada para determinar los constituyentes activos.

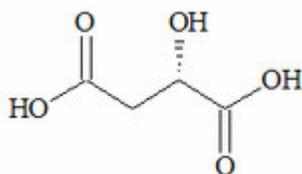
En el procedimiento descrito en FHEUM, sobre el material extraíble de Flor de Jamaica, se determina éste mediante una extracción con agua destilada de una cantidad previamente pesada de jamaica pulverizada en un matraz agitando durante 6 horas, se filtra al vacío y se toma una fracción del filtrado que se deposita en un crisol a peso constante, se evapora el contenido y se coloca en una estufa a una temperatura de 100 °C a 105 °C hasta peso constante.

h) Valoración ^(20, 26)

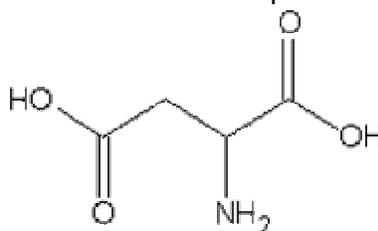
En el material herbario el contenido de algún principio activo específico mayoritario o grupo de principios activos que comparten alguna propiedad química, es un parámetro de calidad al cuantificarse y compararse con la exigencia descrita en la monografía respectiva.

El procedimiento de valoración de la Flor de Jamaica de FHEUM consiste en evaluar la cantidad de ácidos orgánicos presentes en ella. Los principales ácidos que se han reportado en la Flor de Jamaica son:

Ácido málico



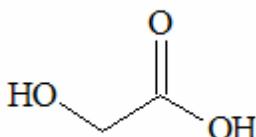
Ácido aspártico



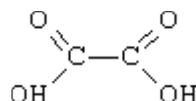
Ácido caprílico



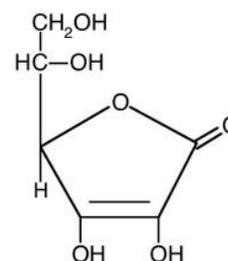
Ácido glicólico



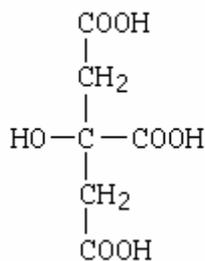
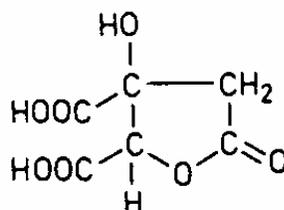
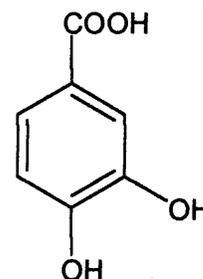
Ácido oxálico



Ácido ascórbico



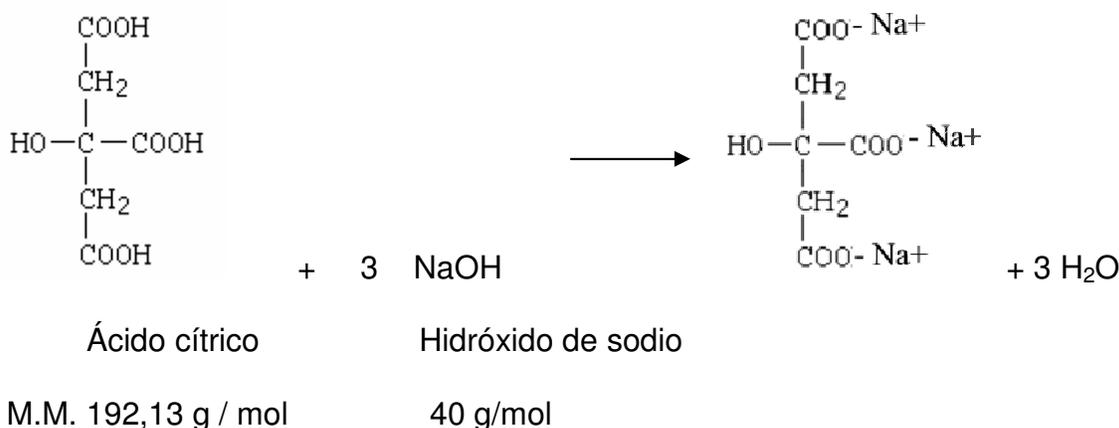
Ácido cítrico

Ácido hibiscus ⁽³¹⁾Ácido Protocatecuico ⁽³⁰⁾

Conocer la cantidad de cada uno de los ácidos presentes es complicado, por lo que se aprovecha la característica ácida en común y se cuantifican mediante una valoración ácido base en medio acuoso. Se hace reaccionar una alícuota del extracto acuoso de una muestra de jamaica pulverizada con una solución valorada de hidróxido de sodio de concentración aproximada de 0,1 N.

La cantidad de ácidos orgánicos se calculan como ácido cítrico y se compara con la exigencia farmacopéica.

La estequiometría de la reacción entre el ácido cítrico y el hidróxido de sodio, justifica la equivalencia que menciona la metodología de FHEUM: "...1 mL de solución de NaOH 0,1 N equivalen a 6,4 mg de ácido cítrico",



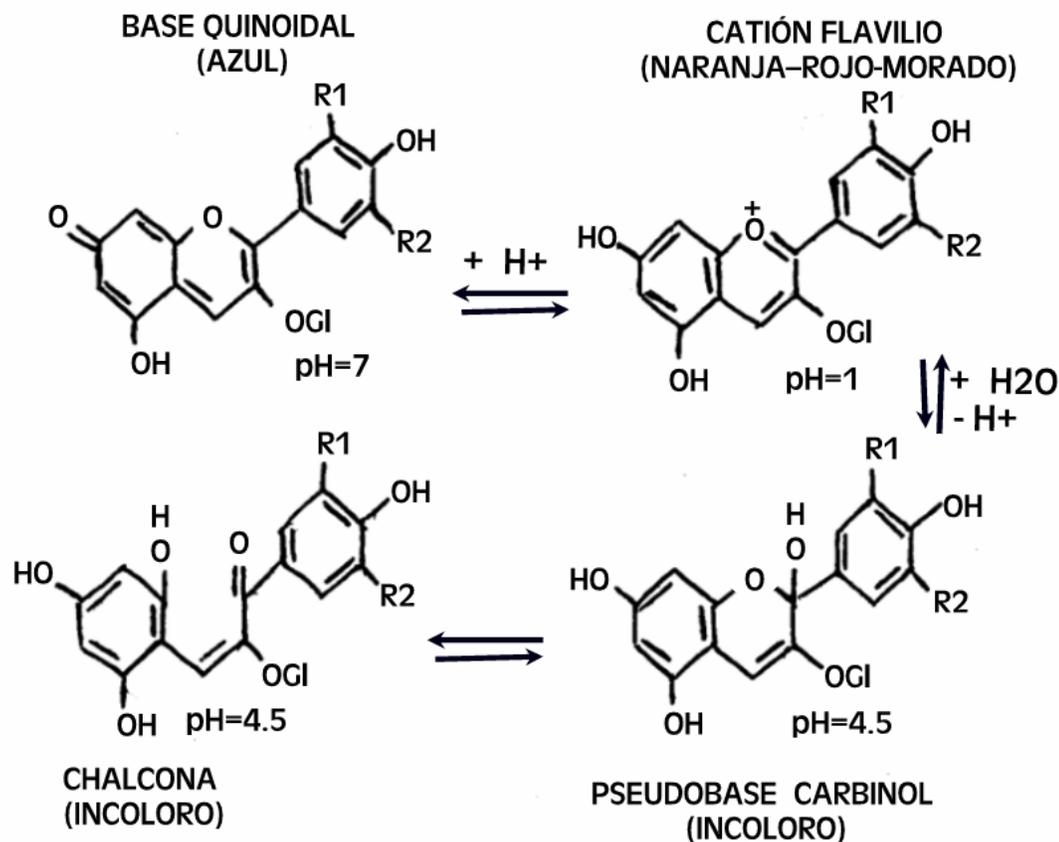
$$1,0\text{mL} \quad SV \text{ NaOH} \left(\frac{0,1\text{mEq NaOH}}{1,0\text{mL NaOH}} \right) \left(\frac{1\text{mmol NaOH}}{1 \text{ mEq NaOH}} \right) \left(\frac{1 \text{ mmol ácido cítrico}}{3 \text{ mmol NaOH}} \right) \left(\frac{192,13\text{mg ácido cítrico}}{1\text{mmol ácido cítrico}} \right) = 6,4\text{mg ácido cítrico}$$

El punto final de la valoración, según establece FHEUM, se determina empleando como indicador las antocianinas presentes en el extracto acuoso de la muestra.

Las antocianinas se emplean como indicadores ácido-base ya que su estructura química varía de acuerdo a determinado pH y como consecuencia la coloración varía dependiendo de la estructura química que se encuentre en mayor proporción.

Las antocianinas tienen su mayor estabilidad en un medio ácido, donde la forma predominante es el ión flavilio de color rojo, a medida que se incrementa el pH se forma la base quinoidal de color azul. A un pH básico, es posible el ataque nucleofílico por parte del agua produciéndose la pseudobase carbinol, esto es aproximadamente a un pH 4,5 posteriormente se forma la chalcona, ambas son incoloras. ⁽²⁶⁾

La figura siguiente muestra la estructura de la antocianina a diferentes valores de pH, donde GI representa al glucósido unido a la antocianidina.



(Rodríguez -Saona y Wrolstad 2001)

En el caso de la Flor de Jamaica la presencia de las antocianinas cianidina, delphinidina y otros pigmentos son los causantes de la coloración del extracto acuoso de la muestra.

Sin embargo las antocianidinas: cianidina y delphinidina poseen un color particular si las observáramos por separado: la primera tiene una coloración roja y la segunda coloración azul, la mezcla de ambos colores varían durante la valoración. En el punto final de la valoración, a un pH neutro ambas antocianidinas son incoloras y la presencia de los otros pigmentos son la causa del color gris verdoso.⁽²⁶⁾

Además de las determinaciones establecidas en la monografía de Flor de Jamaica, deben realizarse las pruebas generales señaladas para los materiales herbarios. Del grupo de las pruebas generales solo está incluida en la monografía la prueba de Materia Extraña. Las otras pruebas requeridas de las materias primas se comentan a continuación:

❖ Metales pesados ^(20, 24)

La presencia de metales pesados en el material herbario se debe a la contaminación ambiental o a trazas de plaguicidas.

La determinación de metales pesados en los productos de origen natural requieren de una degradación previa de la muestra por un método de digestión húmeda. En un vaso de digestión de sílica limpio se coloca la muestra previamente pesada (alrededor de 200 a 250 mg) y se añade la mezcla de digestión preparada con 2 partes de ácido nítrico por una de ácido perclórico concentrado, inmediatamente se calienta lentamente a 100°C y se mantiene por un tiempo de 3 horas, después se incrementa a 120 °C y se mantiene por 2 horas, posteriormente se incrementa a 240 °C durante 4 horas. El residuo inorgánico se disuelve en ácido nítrico concentrado y es usado para la determinación por voltimetría inversa o por espectrofotometría de absorción atómica.

La muestra se prueba con un blanco preparado de forma paralela a la muestra.

Los límites permitidos para productos vegetales secos son:

Plomo: No más de 10 mg / kg
Cadmio: No más de 0,3 mg / kg

❖ Plaguicidas ^(20, 24)

Los plaguicidas son insumos fitosanitarios destinados a prevenir, repeler, combatir y destruir a los organismos biológicos nocivos a los vegetales tales como: insecticidas, fungicidas, herbicidas, acaricidas, molusquicidas, nematocidas y rodenticidas.

Los materiales herbarios debido a las condiciones de cultivo y almacenamiento pueden tener residuos de plaguicidas. El análisis de plaguicidas debe realizarse lo más inmediato posible a la colecta del material herbario o garantizar el almacenamiento en envases herméticos libres de aire, protegidos de la luz y en refrigeración, para evitar la degradación.

Los tratamientos herbolarios requieren de un consumo del producto por un tiempo prolongado, los límites permitidos de plaguicidas se establecieron basados

en las recomendaciones de la Organización para la Agricultura y la Alimentación y la Organización Mundial de la Salud.

La determinación de plaguicidas se realiza principalmente por cromatografía en columna y cromatografía de gases, previa extracción de la muestra. En ocasiones, durante la preparación de la muestra algunos de los plaguicidas se pueden descomponer o la técnica analítica tiene un porcentaje de recobro muy bajo; por lo que de forma general se prefiere utilizar técnicas que permitan detectar a grupos de compuestos plaguicidas en lugar de una técnica dirigida a la detección de un solo plaguicida.

Entre los métodos analíticos empleados para la detección de plaguicidas se encuentran:

- ❖ Determinación de cloro orgánico total, para la detección de hidrocarburos clorados y plaguicidas que contienen en su estructura química cloro.
- ❖ Determinación de fósforo orgánico total, para los plaguicidas que contienen fósforo total.
- ❖ Determinación de arsénico, para los plaguicidas que contienen arsénico.
- ❖ Determinación de plomo total para los plaguicidas, que contienen plomo.
- ❖ Determinación de disulfuro de carbono total, ligado para los plaguicidas tipo ditiocarbamato.

Por ejemplo cuando no se logra determinar el plaguicida en particular y existe la posibilidad de que éste contenga cloro en su estructura química, se determina el contenido total de cloro y se basa en el cálculo sobre el nivel residual aceptable (NRA, en inglés acceptable residue level ARL) del plaguicida clorado más tóxico reportado

Cuando existe la posibilidad de conocer el plaguicida al que ha sido expuesto el material herbario se puede emplear el método para la determinación de ese residuo en particular.

La FAO establece que el límite máximo de ingestión de plaguicidas que provienen de plantas en general, no debe ser mayor del 1 % de la ingesta total permitida.

El NRA son los miligramos de plaguicida por kilogramo de planta, se calcula basándose en el máximo consumo diario aceptable de plaguicidas para humanos (CDA), recomendado por la FAO y la OMS, y la dosis media ingerida diariamente de la planta medicinal. Existen tablas que indican los límites máximos de algunos plaguicidas, de los que no se tiene un límite establecido en tablas se calcula mediante la expresión :

$$NRA = \frac{CDA \times E \times 60}{DMD \times 100}$$

Donde :

CDA = Máximo consumo diario de plaguicidas para humanos(mg / kg de peso corporal).

DMD = Dosis media tomada diariamente de la planta medicinal.

E = Factor de extracción, que determina la velocidad de transición del plaguicida en el material vegetal dentro de la dosis.

La constante 60, en el numerador representa el peso corporal promedio de un adulto, en el denominador el factor 100 representa al 1 % del residuo de plaguicidas provenientes del material vegetal.

Como se puede observar existe la restricción de estos límites de seguridad solo es valida para adultos y no es aplicable en el caso de medicación herbolaria en niños.

❖ Determinación de microorganismos ^(20, 24)

Las condiciones de cultivo de los materiales herbarios promueven la presencia de microorganismos, el manejo, transporte y almacenamiento son causa de contaminación. La determinación de microorganismos es un parámetro de calidad sobre las condiciones de producción, cosecha y transporte; además se debe garantizar que el tratamiento de la muestra del material por analizar no afecte a la detección de los microorganismos presentes, y debe evitarse la contaminación accidental.

Una parte de la prueba es la determinación de microorganismos específicos, está dirigida a la detección de aquellos que representen un riesgo a la salud al ser ingeridos con el material herbario o los productos preparados a partir de él, como son:

- ❖ Enterobacterias y otras bacterias Gram negativas
- ❖ *Escherichia coli*
- ❖ *Salmonella spp.*
- ❖ *Pseudomona aeruginosa*
- ❖ *Staphylococcus aureus*

Otro apartado lo constituye la determinación del número de microorganismos aerobios viables, que puede realizarse por cualquiera de los siguientes métodos : filtración por membrana, conteo en placa o dilución en serie.

Los límites de contaminación microbiana se han establecido de acuerdo al tipo de uso del material herbario.

En la tabla siguiente se muestran los límites que establece FHEUM, basado en Quality Control Methods for Medicinal Plant Materials.

Tipo de material	Límite microbiano
Material herbario crudo que será sometido a procesos posteriores, cosechado en condiciones de higiene aceptables.	<i>Escherichia coli</i> máximo 10^4 UFC por gramo. Propágulos de hongos, máximo 10^5 UFC por gramo.
Material herbario pretratado o que son usados en formas de dosificación tópica.	Bacterias aerobias, máximo 10^7 UFC por gramo. <i>Escherichia coli</i> máximo 10^2 UFC por gramo. Levaduras y hongos, máximo 10^4 UFC por gramo. Enterobacterias, máximo 10^4 UFC por gramo. <i>Salmonella</i> ninguna.
Material herbario para uso interno.	Bacterias aerobias, máximo 10^5 UFC por gramo. <i>Escherichia coli</i> máximo 10 UFC por gramo. Levaduras y hongos, máximo 10^3 UFC por gramo. Enterobacterias, máximo 10^3 UFC por gramo. <i>Salmonella</i> ninguna.

UFC: Unidades Formadoras de Colonias.

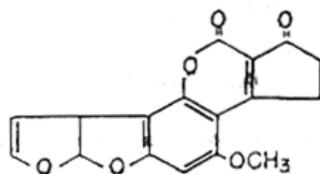
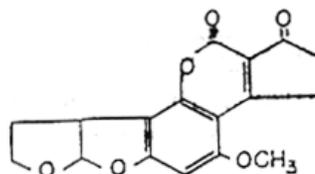
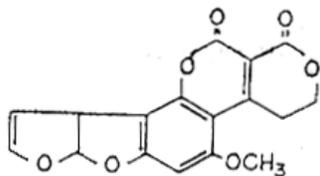
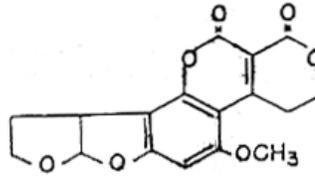
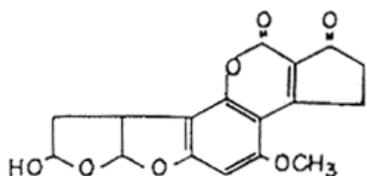
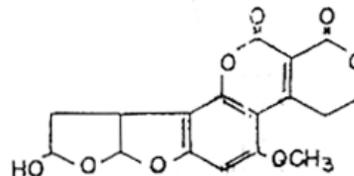
Como puede observarse, los límites presentados en los tres casos no son estrictos, sin embargo el control de calidad en la elaboración de productos de aplicación tópica y de uso interno requiere de un control microbiológico estricto para conservar las características de inocuidad y seguridad, que garantice la ausencia de microorganismos patógenos, que puedan originar un proceso infeccioso, ya que el propósito de administrar un remedio o un medicamento herbolario es contribuir a mejorar el estado de salud del consumidor sin ocasionar algún daño.

❖ Detección de aflatoxinas (20, 24)

Las aflatoxinas son metabolitos tóxicos secundarios que químicamente corresponden a derivados isocumarínicos, producidas por los hongos *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*, principalmente. La presencia de aflatoxinas producidas por microorganismos representa un riesgo para la salud aún en cantidades mínimas por lo que es necesario determinarla.

Existen cuatro aflatoxinas principales, conocidas como aflatoxina B₁, aflatoxina B₂, aflatoxina G₁ y aflatoxina G₂. La letra B indica que estas aflatoxinas tienen fluorescencia azul (Blue) frente a la luz ultravioleta (365 nm), mientras que la letra G indica la fluorescencia verde amarillenta (Green). Además existen los derivados B_{2a} y G_{2a}.

Sobre la estructura química de las aflatoxinas se puede observar que la aflatoxina B₁ y la aflatoxina B₂ difieren entre ellas por la presencia de un doble enlace más en la primera. Por su parte, la aflatoxina G₁ y la aflatoxina G₂ difieren entre sí en el mismo detalle estructural. Las aflatoxinas B difieren de las aflatoxinas G porque el anillo de furano de las primeras se convierte en un anillo de lactona en las segundas.

B₁B₂G₁G₂B_{2a}G_{2a}

La aflatoxina B₁ ha demostrado ser carcinógena en todos los animales en los que se ha probado. El principal órgano blanco es el hígado, aunque también pueden aparecer tumores en otros órganos.

El grado de toxicidad y carcinogenicidad de las aflatoxinas es el siguiente

$$B_1 > G_1 > B_2 > G_2$$

En la especie humana, las aflatoxinas son probablemente responsables de múltiples episodios de intoxicaciones masivas, con producción de hepatitis aguda, en distintas zonas de la India, Sudeste Asiático y África tropical y ecuatorial, y son un factor de agravamiento de enfermedades producidas por la malnutrición, como el kwashiorkor (malnutrición proteica en niños) También son responsables muy probablemente, combinadas con otros factores, de la elevada tasa de cáncer hepático observado en algunas de esas zonas. Desde 1988, la OMS considera a la aflatoxina B₁ como un carcinógeno para el hombre. ⁽²⁸⁾

La prueba farmacopéica está encaminada a detectar la posible presencia de las que son altamente peligrosas para la salud como son: B₁, B₂, G₁ y G₂. El procedimiento general consiste en una extracción de la muestra, concentrado del extracto, cromatografía en columna y cromatografía en capa fina. La especificación farmacopéica establece que no debe estar presente ninguna de las aflatoxinas

Los análisis de micotoxinas encierran una gran dificultad, debido que se encuentran presentes en cantidades del orden de ng/g (ppb), especialmente en alimentos terminados, por lo que son puntos críticos para esta determinación ⁽²⁹⁾:

- ❖ Contar con una muestra realmente representativa ya que la distribución de las aflatoxinas es completamente aleatoria.
- ❖ Si bien la farmacopea establece un método de análisis, la FAO sugiere que para efectuar cualquier determinación es necesario trabajar con métodos que hayan sido evaluado por una asociación analítica de prestigio internacional como la *American Association of Cereal Chemists (AACC)*, *American Oil Chemists' Society (AOCS)*, *Association Official of Analytical Chemists International (AOAC International)*, *International Organization for Standardization (ISO)*, *International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC)*, *Codex Committee on Methods of Analysis and Samples*. El punto de vista de la *Food and Drug Administration (FDA)* de los Estados Unidos es que, aún trabajando con un método oficial AOAC para determinación de micotoxinas, no se tiene la garantía de que los resultados obtenidos sean correctos y el analista tiene la responsabilidad de demostrar que utilizó el método adecuado.
- ❖ Otro problema es la obtención de los estándares ya que en América Latina no se producen y tienen que ser importados de Estados Unidos o Sudáfrica, se han reportado problemas con la concentración de los mismos, al ser

reconstituidos se ha observado que sólo se recupera del 70 al 90% de la cantidad que aparece en la etiqueta, así como con la inestabilidad de las soluciones de micotoxinas.

- ❖ En el análisis por cromatografía en capa fina, de los alimentos que contienen como ingredientes pigmentos de origen natural que presentan fluorescencia, ésta interfiere en las determinaciones dando lugar a que se reporten falsos positivos.
- ❖ En México es común que se reporte la presencia de aflatoxina B₁ en harina de pescado o en concentrados de flor de cempasúchil, cuando en realidad lo que se está detectando es el antioxidante, etoxiquin, utilizado para estabilizar estos productos.

Determinaciones farmacopéicas en otras publicaciones oficiales

Después de revisar los métodos y especificaciones establecidas en FHEUM, se comentan las principales diferencias metodológicas presentes en las monografías de flor de Jamaica que aparecen respectivamente en la Farmacopea Alemana y la Farmacopea Europea.

Respecto a la prueba de identificación de compuestos químicos de la materia prima Flor de Jamaica; en ambas publicaciones, se utiliza la técnica de cromatografía en capa fina del extracto de la flor, pero la principal variante consiste en los estándares de referencia que se emplean y por lo tanto también en la interpretación.

En la metodología descrita en la Farmacopea Alemana, se realiza una extracción de una muestra de flor de Jamaica pulverizada con una solución de ácido clorhídrico al 25% en metanol (10:90). Emplea como estándar de referencia una solución de azul de metileno de concentración 0,5 mg / mL que se aplica en una fase estacionaria en proporción de 10 µL de estándar por 20 µL de muestra con una separación entre ambas de 2 cm. Una vez secas se deja correr 15 cm en una cámara cromatográfica empleando como fase móvil una mezcla de agua: ácido fórmico anhidro: ácido clorhídrico al 25%: butanol (6:12:12:70).

La evaluación de la prueba consiste en observar a la luz del día una mancha azul en la zona de corrimiento de la solución de referencia, en la de la muestra se observa en el punto medio entre la línea de aplicación y la zona azul de la referencia una zona intensa rojo violeta e inmediatamente arriba una segunda zona roja menos intensa, por arriba de la zona azul de la referencia se encuentran una o dos zonas rojizas, probablemente cerca de la línea de aplicación se encuentre una zona roja.

En la Farmacopea Europea, la técnica cromatográfica en capa fina se efectúa con la preparación de un extracto de la flor de jamaica pulverizada en etanol al 60% agitada por 15 minutos y un estándar preparado con rojo de quinaldina de concentración 0,25 mg / mL en etanol. Se aplican 20 μ L de la muestra y del estándar por separado en una placa de sílica gel empleando como fase móvil una solución de ácido acético : agua : butanol (15:30:60), se desarrolla el cromatograma con un desplazamiento de 10 cm del frente de referencia. Se deja secar al aire y la detección es a la luz del día, donde se debe observar en la zona de corrimiento del estándar una zona rojo naranja correspondiente al rojo de quinaldina y en la zona de la muestra inmediatamente por debajo del nivel de la mancha de la solución de referencia se distingue una secuencia de zonas : una zona violeta pálida, seguida de tres zonas azul-violeta.

Otra prueba que está incluida en las Farmacopea Alemana y en la Farmacopea Europea es la de Color de la solución. Esta prueba indica, en ambas publicaciones, preparar un extracto acuoso a una concentración determinada de la muestra de Flor de Jamaica pulverizada, realizar una dilución del extracto el cual se compara, en el caso de la Farmacopea Alemana, con un estándar preparado con cloruro de cobalto hexahidratado disuelto en una solución de ácido clorhídrico al 36% : agua (25:975) con una concentración final de 59,5 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; mientras que la comparación que se describe en la Farmacopea Europea, se realiza midiendo la absorbancia de la dilución del extracto a 520 nm empleando como blanco agua grado analítico y comparando con el dato teórico de absorbancia reportado de 0,250 como límite mínimo con el que debe cumplir la solución de concentración determinada en el procedimiento del material pulverizado de flor de jamaica.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

IV. 1 Reactivos y equipo

Los reactivos empleados en el trabajo experimental fueron grado reactivo analítico.

El equipo utilizado fue:

- ❖ Microscopio de la marca Carl Zeiss modelo 4346335.
- ❖ Balanza granataria marca Ohaus Triple Beam Balance, modelo 700, sensibilidad de ± 1 mg.
- ❖ Estufa marca Felisa, modelo 291.
- ❖ Mufla marca Thermoline 1400, modelo Furnase.
- ❖ Potenciómetro de la marca Orión, modelo 920A.
- ❖ Balanzas analíticas: Explorer VII , OHAUS, modelo GA200 y Mettler AE 163; con sensibilidad $\pm 0,1$ mg .

IV. 2 Muestra Analítica

Las muestras analizadas provienen de tres fuentes:

Muestra A: Flor de Jamaica a granel seca adquirida en la Central de Abastos, cantidad de muestra 1 kg, a la que se realiza cuarteado hasta obtener una cantidad de muestra de 500 g; a partir de ella se obtuvieron: la muestra promedio (100 g) y la muestra de prueba (400 g). La molienda se realizó con licuadora por fracciones de tiempo de 3 minutos para evitar incremento de la temperatura, hasta obtener un polvo fino. Las determinaciones analíticas, que se realizaron a la muestra fueron: descripción macroscópica, microscópica, pérdida por secado, ensayo de identidad, cenizas totales, material extraíble, valoración y color de la solución.

Muestra B: Flor de Jamaica en polvo para té, cantidad 1 caja con 30 sobres de 1 g cada uno, envasado por Plantas Anáhuac, Lote # 012E111, fecha de caducidad: octubre de 2010. Se realizó homogenizado del contenido de los sobres y molienda en mortero. La determinaciones que se realizaron a la muestra fueron ensayo de identidad, valoración y color de la solución.

Muestra C: Flor de Jamaica en polvo para té, cantidad 1 caja con 20 sobres de 1 g cada uno, envasada por Lag's, Lote 300651 fecha de caducidad: agosto de 2009. Se realizó homogenizado del contenido de los sobres y molienda en mortero. Se realizaron las determinaciones valoración y color de la solución.

Las tres muestras se almacenaron en envases cerrados y protegidos de la luz.

IV. 3 Descripción macroscópica

El procedimiento seguido de acuerdo con lo indicado en FHEUM es el siguiente:

1. A partir de la muestra promedio, seleccionar al azar 10 unidades de flores de Jamaica.
2. Humectar las partes secas de las flores con agua destilada.
3. Alisar las partes dobladas y / o arrugadas de las flores
4. Extender las flores sobre una superficie de papel milimétrico.
5. Identificar las características de la descripción farmacopéica :
 - a) Color
 - b) Cáliz , número de sépalos y características
 - c) Tipo de cálculo
 - d) Medir la altura de los sépalos
 - e) Forma del cálculo exterior, número de láminas
6. Comparar con la descripción farmacopéica.

IV. 4 Descripción microscópica

El procedimiento según FHEUM, es el siguiente:

1. A partir de la muestra de prueba, seleccionar partes representativas del material como son fragmentos de sépalos y del polvo.
2. Humectar los fragmentos de la muestra con agua destilada.
3. Realizar cortes que permitan una preparación lo más delgada posible y colocar sobre un portaobjetos.
4. Preparar la cantidad suficiente para el análisis de la Solución de Prueba de Hidrato de cloral (0.5 mL), siguiendo la proporción indicada en la farmacopea: ... "Disolver 50 g de Hidrato de cloral en 20 mL de agua (2.5 g / mL); guardar en un envase cerrado, protegida de la luz".
5. Adicionar una gota de la Solución de Prueba de Hidrato de cloral sobre la muestra .
6. Calentar sobre un mechero intermitentemente, evitando que la muestra se seque, adicionando la Solución de Prueba de Hidrato de cloral , hasta lograr que el espécimen sea transparente.

7. Colocar un cubreobjetos sobre la preparación.
8. Observar por medio del microscopio la preparación con los objetivos 10x y 100x.
9. Realizar la búsqueda de las estructuras descritas en la especificación como son: tricomas, maclas de oxalato de calcio, gránulos.

IV. 5 Ensayo de identidad

No se realizó la determinación descrita en la FHEUM debido a que no fue posible conseguir los reactivos, que se utilizan como estándares : cloruro de cianidina y cloruro de delfinidina.

Sin embargo, se escogió entre las alternativas mencionadas en el capítulo anterior, la metodología para la identificación descrita en la monografía de Flor de Jamaica de la Farmacopea Alemana (DBA 10), ya que el estándar que emplea es más factible de conseguirse en el laboratorio escolar.

El procedimiento que se siguió es el siguiente:

1. Preparación de la fase estacionaria, utilizar como soporte placas de vidrio de tamaño 20 cm x 7 cm.
 - a) Lavar y secar las placas de vidrio, evitando dejar residuos de jabón y grasa.
 - b) Fijar la placa de vidrio a una superficie horizontal por los lados más largos con cinta adhesiva (masking tape), y superponer tiras de la cinta hasta lograr un grosor de $\approx 0,25$ mm de espesor.
 - c) Pesar 2 g de celulosa en un vaso de precipitados de 50 mL y suspender en 7 mL de agua, agitando hasta lograr homogenizar por 60 s.
 - d) Depositar la suspensión de celulosa sobre un extremo de la placa de vidrio y extenderla con un solo movimiento con ayuda de una varilla de vidrio.
 - e) Dejar secar la placa de vidrio a temperatura ambiente.
 - f) Para activar las placas, se prepara solución de HCl 1 % y se deposita una cantidad suficiente para cubrir el fondo de la cámara cromatográfica, dejar que se sature la cámara, colocar la placa dentro de la cámara, cerrar el sistema; esperar hasta que ascienda la solución por la placa casi hasta el borde superior.
 - g) Extraer la placa del sistema y dejarla secar al aire a temperatura ambiente.

2. Preparación de la fase móvil:

- a) Preparar 50 mL de una mezcla: agua : ácido fórmico anhidro : ácido clorhídrico al 25% : butanol (6:12 : 12 : 70).
- b) Mezclar los reactivos hasta lograr homogenizar la solución.
- c) Guardar en un recipiente seco y con tapa para evitar la evaporación del disolvente.

3. Preparación de la muestra:

- a) Pesar en una nave 1,0 g de la Flor de Jamaica en polvo (muestra de prueba).
- b) Preparar 20 mL de una solución de ácido clorhídrico al 25% : metanol, (10:90).
- c) Colocar la muestra en un matraz redondo de fondo plano, adicionar 6 mL de la solución preparada de acuerdo al inciso anterior y colocar una barra magnética.
- d) Agitar durante 15 minutos.
- e) Filtrar la solución. Ésta es la solución de prueba.

4. Preparación de la referencia:

- a) Pesar en una nave 5,0 mg de azul de metileno RA.
- b) Disolver en 10,0 mL de metanol.
- c) Guardar en un envase cerrado y protegido de la luz.

5. Depositar en la placa cromatográfica separadas entre sí por una distancia de 2 cm, 20 μ L de la solución de la muestra y 10 μ L de la solución de referencia. Dejar secar al aire a temperatura ambiente.

6. Verter la cantidad suficiente de fase móvil para cubrir el fondo de la cámara cromatográfica y dejar que se sature.

7. Colocar la placa cromatográfica dentro de la cámara y dejar que ascienda la fase móvil hasta alcanzar una distancia de 15 cm.

8. Extraer de manera cuidadosa la placa del sistema y dejar secar al aire y a temperatura ambiente.
9. Evaluación del resultado: en el cromatograma de la solución de referencia aparece una mancha azul; en la solución de la muestra, aparece una zona rojo violeta intensa en el punto medio entre el punto de aplicación y la zona azul de la referencia, inmediatamente arriba una segunda zona roja menos intensa. Por arriba de la zona azul de la solución de referencia se encuentran una o dos zonas rojizas, probablemente cerca del punto de aplicación se puede encontrar una zona roja.

IV. 6 Materia extraña

Se realizó el siguiente procedimiento :

1. A partir de la muestra promedio, pesar 250 g de muestra del material herbario.
2. Esparcir el material de la muestra en una capa delgada sobre una superficie limpia y seca de tal forma que permita visualizarlo.
3. Examinar por inspección visual o con una lupa 6x o 10x, en búsqueda de material que no cumpla con la descripción farmacopéica.
4. Tamizar la muestra a través de una malla 250.
5. Clasificar los grupos de materia extraña de acuerdo a su origen (vegetal, animal y mineral).
6. Pesar las porciones de materia extraña con una aproximación de 0,05 g.
7. Calcular el contenido de materia extraña, en gramos por 100 g de muestra secada al aire.

IV. 7 Pérdida por secado

Se efectuó de acuerdo con el procedimiento gravimétrico citado en FHEUM como se indica:

1. Colocar un pesafiltros limpio y seco, previamente secado, en la estufa a una temperatura entre 100°C a 105°C, por un tiempo de 2 h, después colocarlo en un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente, pesarlo. Repetir el procedimiento hasta alcanzar peso constante (cuando 2 pesadas consecutivas no difieran por más de 0,5 mg).
2. Pesar exactamente 1,0 g de jamaica pulverizada (muestra de prueba) en el pesafiltros a peso constante.
3. Colocar el pesafiltros con la muestra en la estufa a una temperatura entre 100°C a 105°C por un tiempo de 2 h. Enfriar en un desecador y pesar.
4. Repetir el procedimiento, hasta que 2 pesadas consecutivas no difieran por más de 0,5 mg.
5. Calcular la pérdida de peso en por ciento de material secado al aire.

Se recomienda realizar como mínimo dos determinaciones con pesadas independientes bajo las mismas condiciones experimentales.

IV. 8 Cenizas totales

El procedimiento seguido de acuerdo a FHEUM es el siguiente:

1. Colocar un crisol de sílice limpio y seco en una mufla a una temperatura de 500°C durante 2 h, después sacarlo y colocarlo en un desecador hasta alcanzar la temperatura ambiente, pesarlo. Repetir el procedimiento hasta alcanzar peso constante (cuando 2 pesadas consecutivas no difieran por más de 0,5 mg).
2. Pesar exactamente 1,0 g de jamaica pulverizada (muestra de prueba) en un crisol, previamente llevado a peso constante.
3. Esparcir el material en el fondo del crisol formando una capa homogénea .
4. Iniciar la incineración de la muestra contenida en el crisol con un mechero.
5. Continuar la incineración de la muestra en la mufla aumentando gradualmente la temperatura de 500°C a 600°C hasta que el residuo se observe blanco. El color blanco indica la ausencia de carbón.

6. En el caso de no obtenerse cenizas libres de carbón, se procede a mojar con 2 mL de agua o con solución saturada de nitrato de amonio.
7. Secar la muestra húmeda en un baño de agua y posteriormente en una placa de calentamiento.
8. Calcinar la muestra como lo indica el inciso 4.
9. Enfriar en un desecador el residuo durante 30 minutos.
10. Pesar rápidamente, repetir el procedimiento hasta lograr un peso constante.
11. Calcular el por ciento de cenizas totales en el material secado al aire.

Se recomienda realizar como mínimo dos determinaciones con pesadas independientes bajo las mismas condiciones experimentales.

IV. 9 Material extraíble

El procedimiento seguido de acuerdo a FHEUM se describe a continuación:

1. Pesar exactamente 5,0 g de flor de jamaica pulverizada (muestra de prueba).
2. Colocar la muestra en un matraz de bola de fondo plano de 250 mL provisto de tapón, se añaden 100 mL de agua y una barra magnética.
3. Tapar el matraz y agitar mecánicamente durante 6 horas.
4. El contenido del matraz se filtra al vacío y se colecta el filtrado.
5. Colocar 20,0 mL de filtrado en un cristizador, previamente puesto a peso constante.
6. Evaporar a sequedad en un baño de agua y finalizar la evaporación en una estufa a una temperatura de 100 °C a 105 °C, hasta peso constante.
7. Calcular, en por ciento, la cantidad de material extraíble con agua.

Se recomienda realizar dos determinaciones por pesadas independientes, bajo las mismas condiciones experimentales.

IV. 10 Valoración

1. Preparación de la Solución Valorada de Hidróxido de sodio 0,1 N
 - a) Pesar 4,0 g de hidróxido de sodio, disolver en un vaso de precipitados de 250 mL con agua recién hervida y fría (libre de dióxido de carbono).
 - b) Transferir cuantitativamente a un matraz volumétrico de 1000,0 mL, enfriar y llevar al volumen de aforo con agua.
 - c) Almacenar en un frasco de plástico bien cerrado.

2. Estandarización de la Solución Valorada de Hidróxido de sodio modificando la cantidad de estándar primario (ftalato ácido de potasio).
 - a) Pesar exactamente 0,5 g de ftalato ácido de potasio.
 - b) Transferir el ftalato ácido de potasio a un matraz Erlenmeyer de 250 mL y disolver con 75 mL de agua recién hervida y fría (libre de dióxido de carbono).
 - c) Titular con la Solución de Hidróxido de sodio preparada, usando solución indicadora de fenolftaleína, como indicador.
 - d) Se debe realizar un mínimo de 3 determinaciones con pesadas independientes, bajo las mismas condiciones experimentales, calcular la Normalidad de la solución, así como la desviación estándar y la desviación estándar relativa.

3. Valoración de la muestra de Flor de Jamaica.
 - a) Pesar 1,0 g de flor de jamaica en polvo (muestra de prueba).
 - b) Colocar en una matraz de fondo plano la muestra con 50 mL de agua recién hervida y fría (libre de dióxido de carbono), se coloca una barra magnética.
 - c) Extraer durante 5 minutos en un baño de agua con agitación continua mediante un agitador magnético.
 - d) Filtrar el líquido aún en caliente, recibir el filtrado en un matraz volumétrico de 50,0 mL.

- e) Lavar el filtro con agua tibia sin llegar al volumen de aforo (aproximadamente 1 mL).
- f) Después de enfriar, llevar al volumen de aforo con agua y mezclar.
- g) Tomar una alícuota de 10,0 mL y depositarla en un matraz Erlenmeyer .
- h) Titular con Solución Valorada de Hidróxido de sodio 0,1 N, el punto final de la valoración es cuando la solución cambia a un color gris verdoso.
- i) Se calcula la cantidad de ácidos orgánicos expresada como ácido cítrico.

Se deben realizar como mínimo tres determinaciones con pesadas independientes.

IV. 11 Color de la solución

Esta determinación sólo está incluida en las referencias: Farmacopea Alemana y Farmacopea Europea; se eligió realizar la prueba de acuerdo a la técnica descrita en la Farmacopea Alemana (DBA 10).

1. Preparación de la solución estándar.

- a) Preparar 200 mL de una mezcla de ácido clorhídrico al 36 % : agua (25:975). Una propuesta es medir 5 mL de ácido clorhídrico, verter en un matraz volumétrico de 200,0 mL que contenga la mitad de agua destilada, enfriar hasta temperatura ambiente y llevar a la marca de aforo con agua destilada.
- b) Pesar 6,0 g de cloruro de cobalto hexahidratado.
- c) Colocar el cloruro de cobalto en un matraz volumétrico de 100,0 mL, disolver con la mezcla preparada en el inciso anterior y llevar a la marca de aforo con la mezcla.

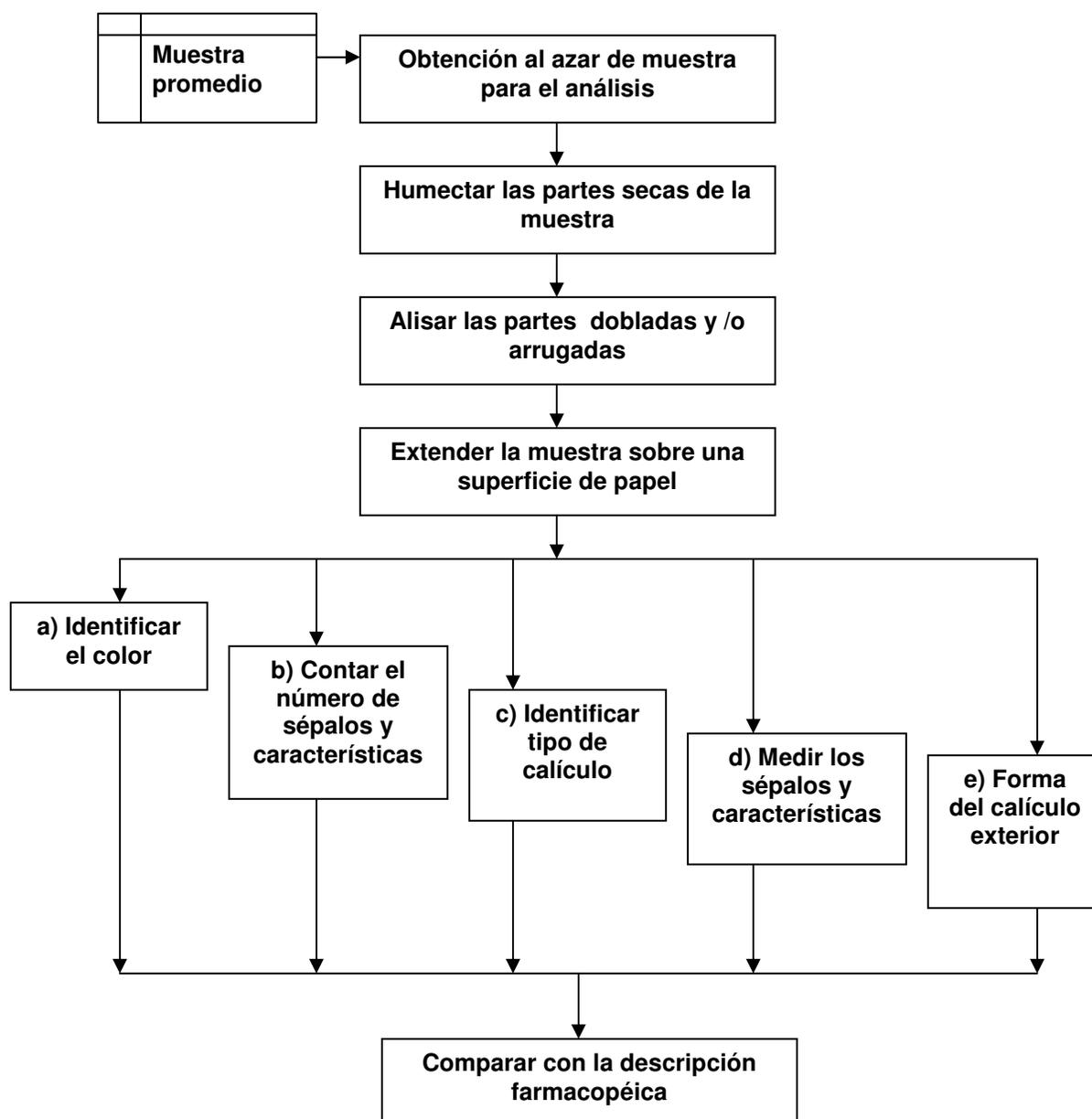
2. Preparación de la solución de muestra.

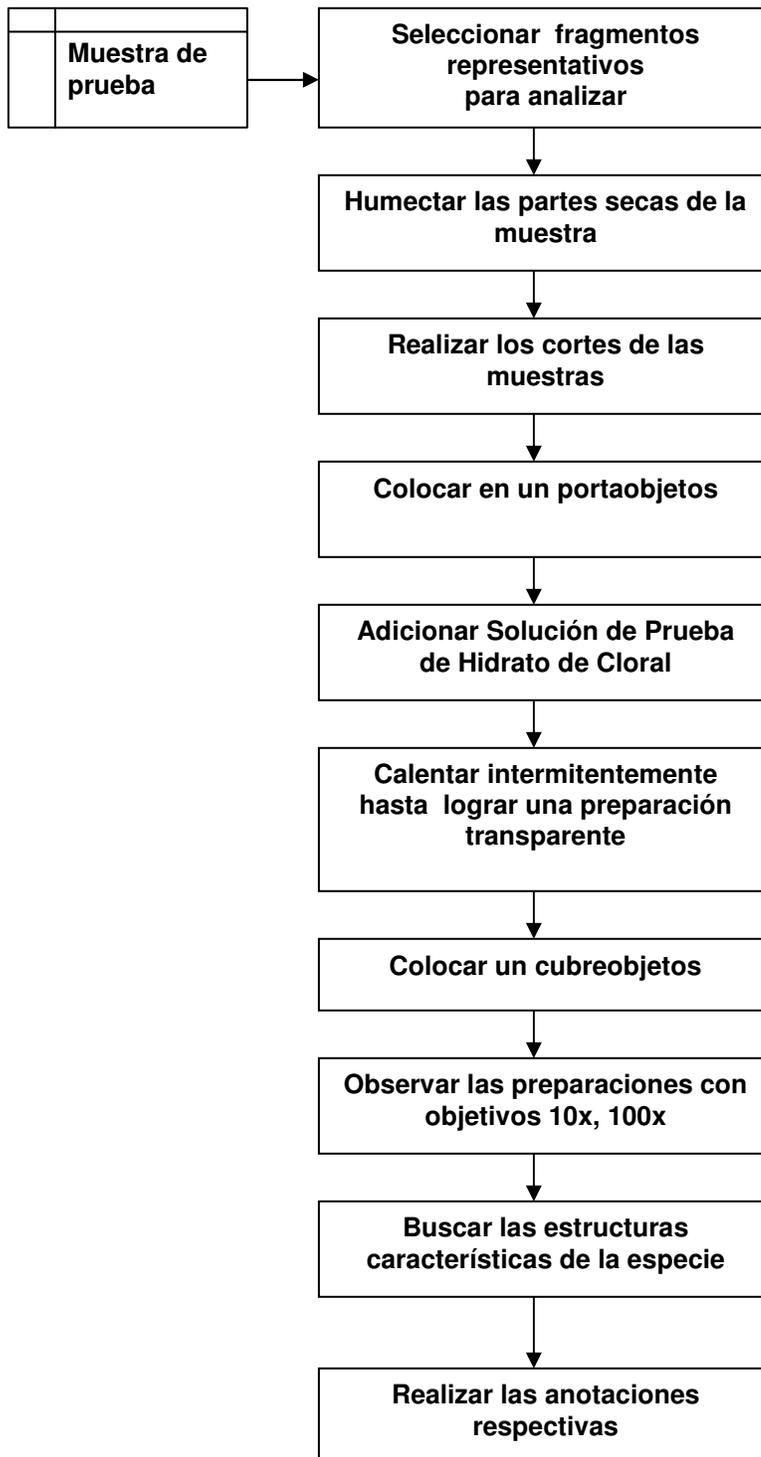
- a) Pesar 4,0 g de flor de jamaica pulverizada (muestra de prueba).
- b) Pasar la muestra a un matraz de bola de fondo plano, adicionar 100 mL de agua y una barra magnética, calentar en un baño de agua por 15 minutos con agitación.

- c) Filtrar la mezcla, recibir el filtrado en un matraz volumétrico de 100,0 mL, esperar que el filtrado adquiera la temperatura ambiente y llevar al volumen de aforo con agua. El filtrado es la solución de comparación de la muestra.
3. Verter cada solución en un tubo Nessler y comparar el color de la muestra con el del estándar.

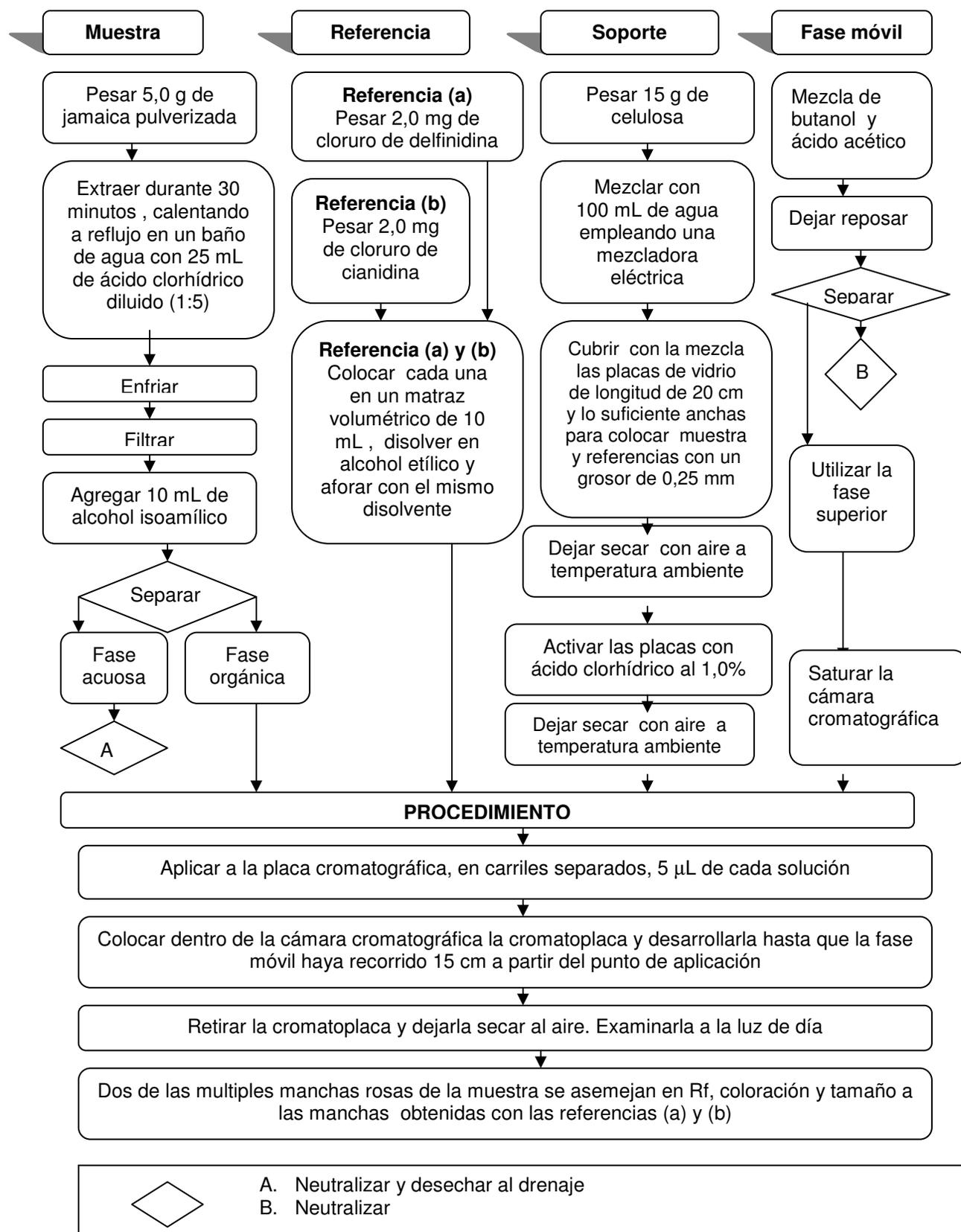
IV. 12 Diagramas de trabajo

a) Descripción macroscópica (FHEUM 2001)

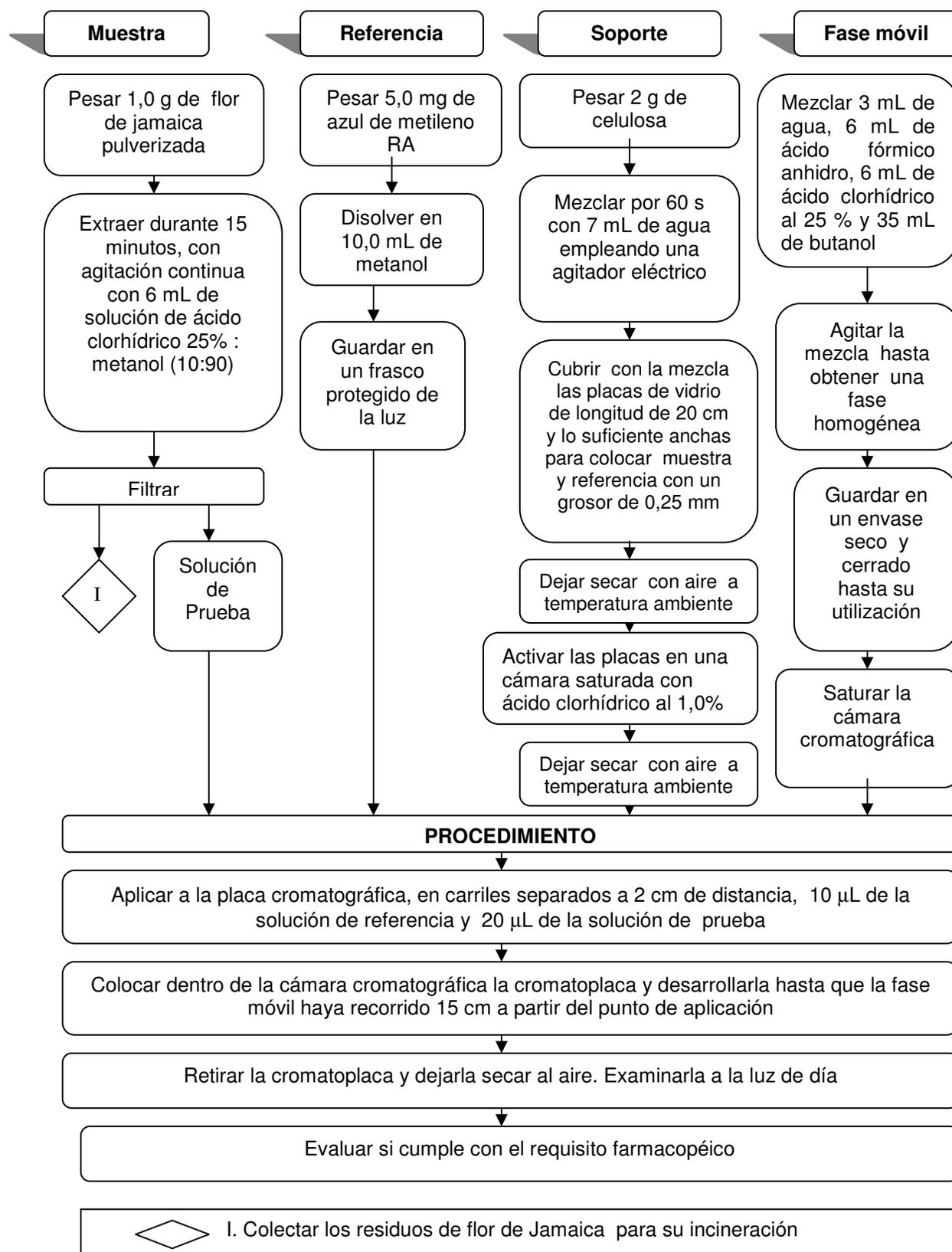


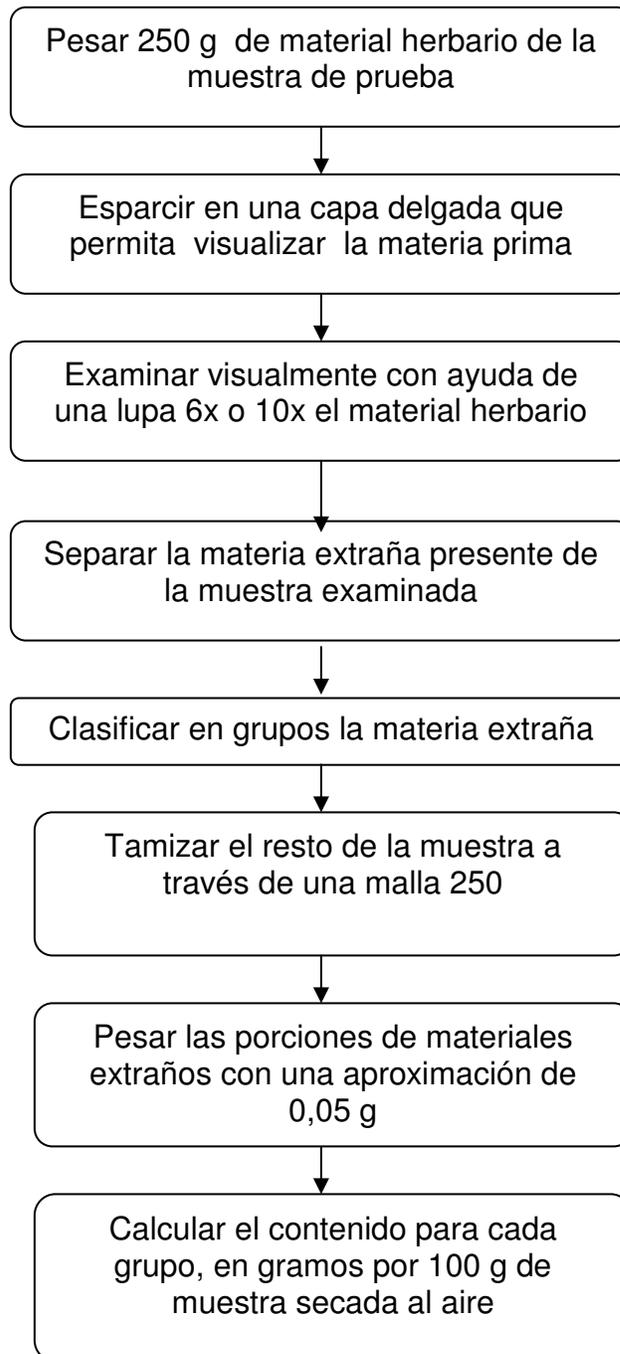
b) Descripción microscópica (FHEUM 2001)

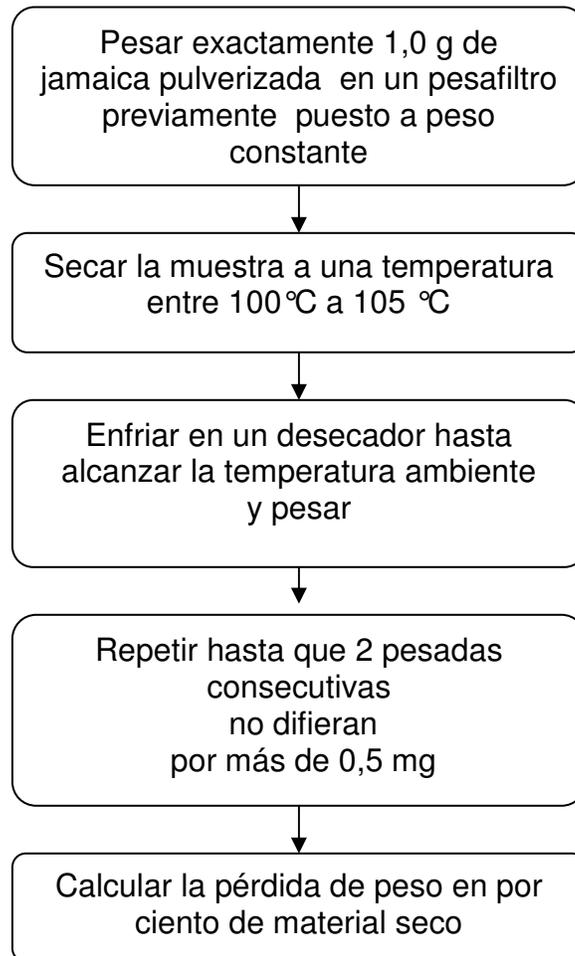
c) Ensayo de identidad (FHEUM 2001)

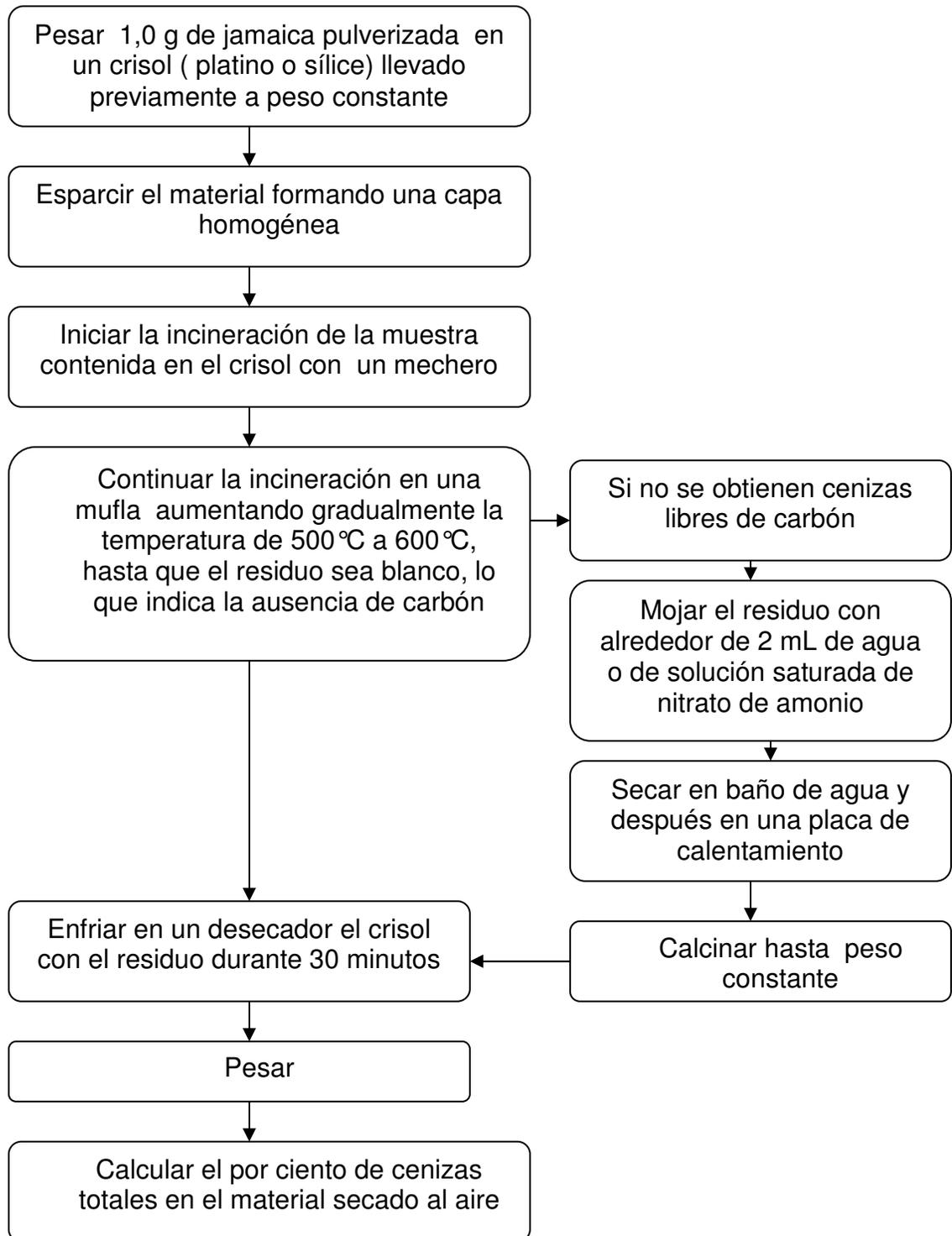


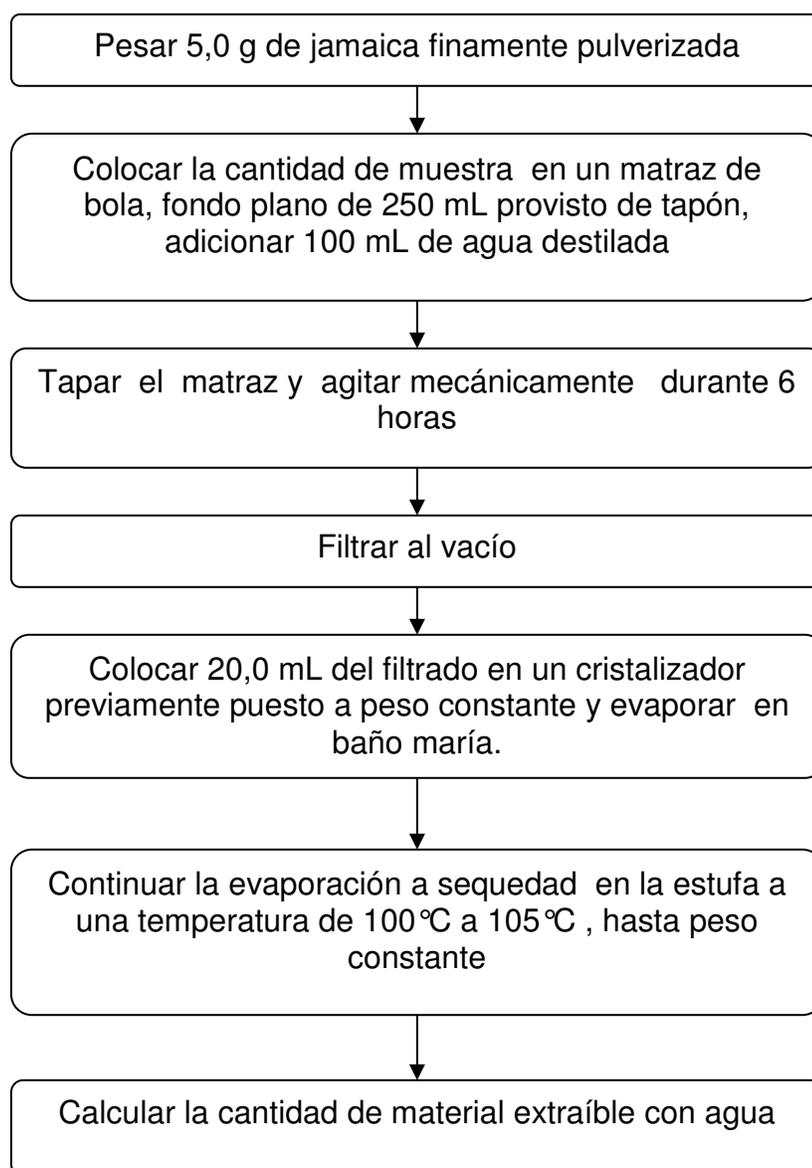
d) Ensayo de identidad (DBA 10)



e) Materia extraña (FHEUM 2001)

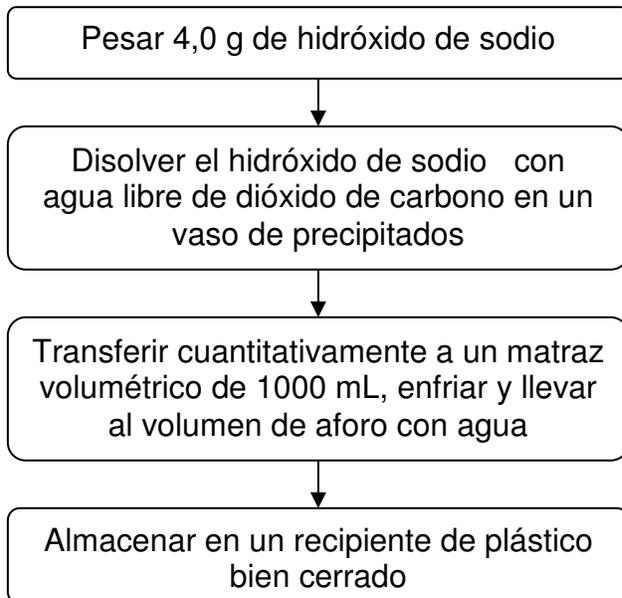
f) Pérdida por secado (FHEUM 2001)*Determinación gravimétrica*

g) Cenizas totales (FHEUM 2001)

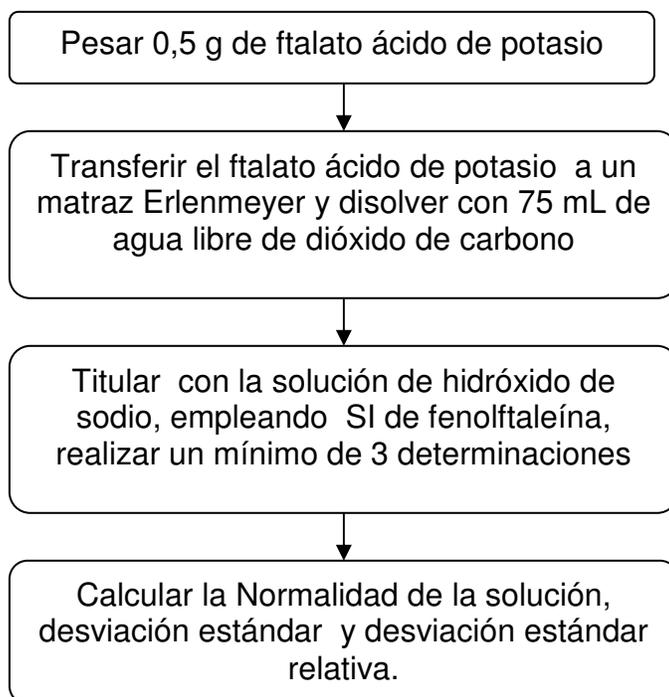
h) Material extraíble (FHEUM 2001)

i) Valoración (FHEUM 2001)

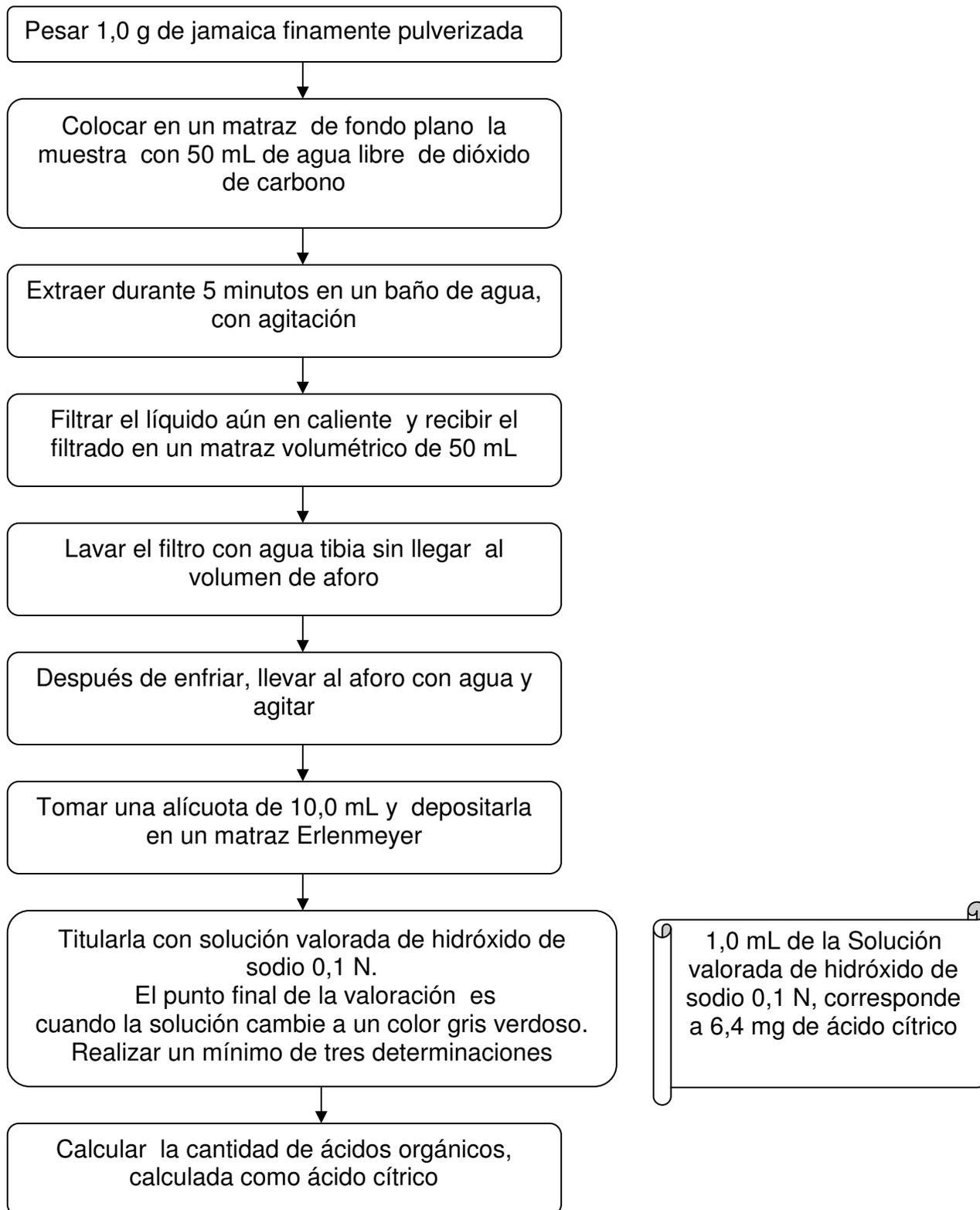
- ❖ Preparación de la Solución Valorada de Hidróxido de sodio 0,1 N.

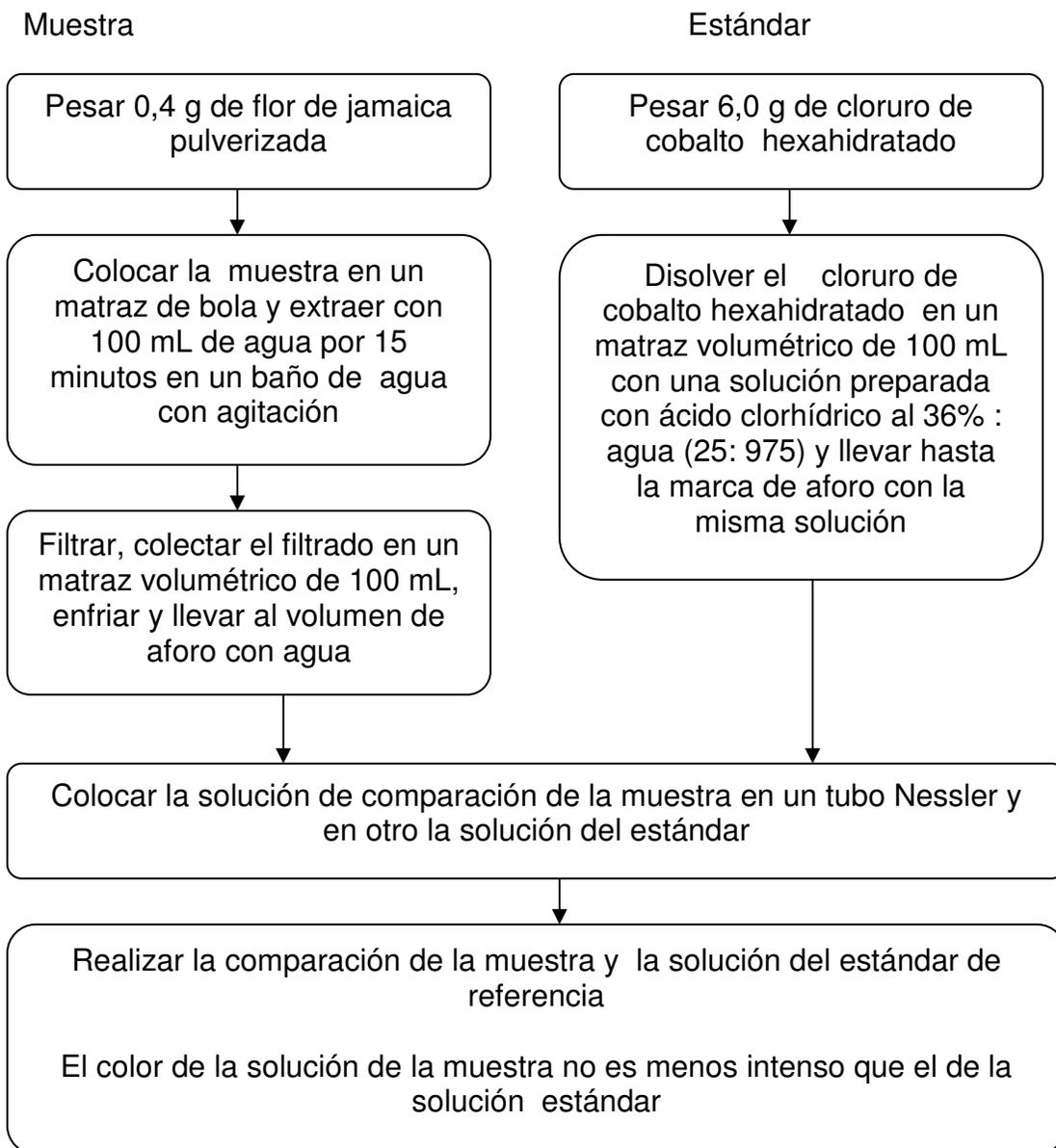


- ❖ Estandarización de la Solución Valorada de hidróxido de sodio 0,1N



❖ Procedimiento de Valoración de Flor de Jamaica



j) Color de la solución (DBA 10)

V. RESULTADOS

V.1. Descripción macroscópica

Se obtuvo de la muestra compuesta al azar una muestra de 10 flores en las que se observaron las siguientes características:

- Color
- Cáliz de 5 sépalos (forma de lengüetas carnosas)
- Calículo exterior multífido
- Medidas de los sépalos (2,0 cm a 3,0 cm de largo hasta 5 cm, libres o asociados)
- Calículo exterior pequeño, número de lengüetas (pequeñas láminas agudas y oscuras)

El análisis se realizó por duplicado

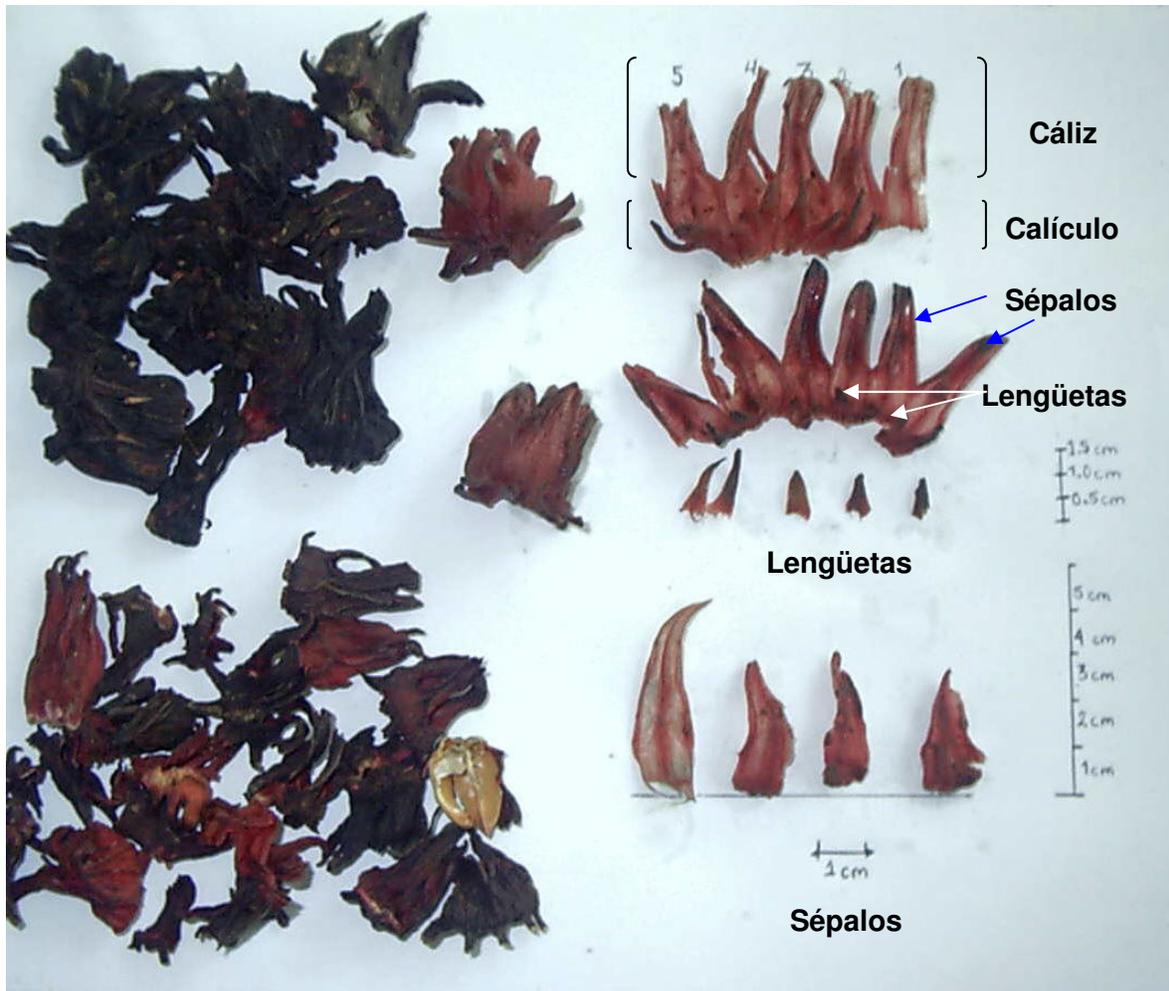
Muestra 1

Flor	a	B	c	d	e
1	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,7cm	1,2 cm 10 lengüetas
2	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,5 cm	1,2 cm 10 lengüetas
3	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,9 cm	1,1 cm 10 lengüetas
4	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	4,1 cm	1,2 cm 10 lengüetas
5	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	4,3 cm	0,8 cm 10 lengüetas
6	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,8 cm	0,9 cm 10 lengüetas
7	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,9 cm	0,8 cm 10 lengüetas
8	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	4,3 cm	0,7 cm 10 lengüetas
9	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,6 cm	0,9 cm 10 lengüetas
10	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	4,0 cm	0,8 cm 10 lengüetas

Muestra 2

Flor	a	B	c	d	E
1	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,5 cm	0,7 cm 10 lengüetas
2	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,9 cm	0,8 cm 10 lengüetas
3	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,6 cm	0,7 cm 10 lengüetas
4	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	2,8 cm	0,6 cm 10 lengüetas
5	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,5 cm	0,9 cm 10 lengüetas
6	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,5 cm	0,9 cm 10 lengüetas
7	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	2,8 cm	0,6 cm 10 lengüetas
8	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,2 cm	0,8 cm 10 lengüetas
9	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,6 cm	0,7 cm 10 lengüetas
10	Rosa intenso	5 sépalos / lengüetas carnosas	Si	3,3 cm	0,8 cm 10 lengüetas

En la imagen siguiente se observa como a partir de la muestra obtenida al azar se identifica la morfología y tamaño del material herbario. En el extremo superior derecho se muestra una vez humectado el material el número de sépalos encontrados; en la parte central derecha la variedad de tamaños en que se pueden encontrar las láminas que componen el cálculo exterior; en el extremo inferior se expone una variedad de tamaños de los sépalos que se encuentran dentro de las especificaciones.



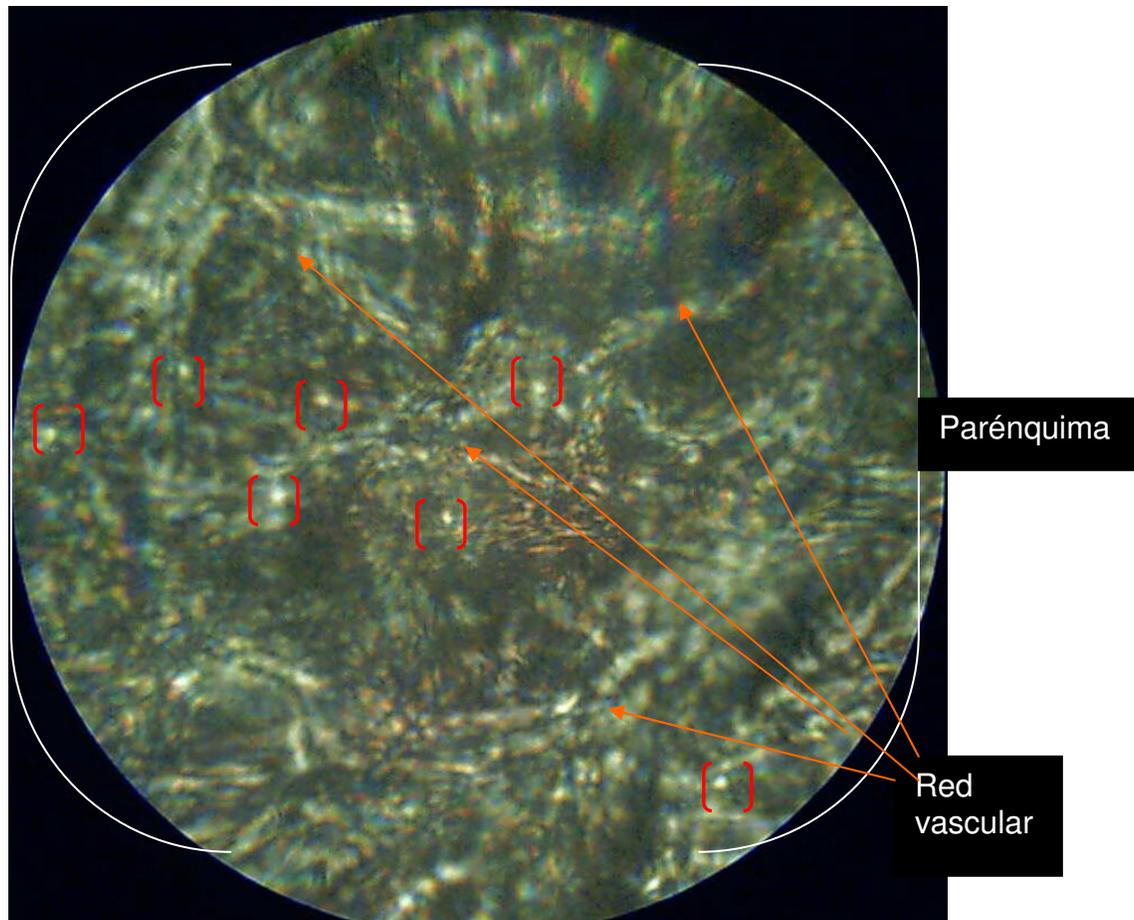
Resultado de la determinación macroscópica:

El material examinado de la muestra cumple con las especificaciones farmacopéicas.

V.2. Descripción microscópica

Del procedimiento descrito en FHEUM aplicado a la muestra de análisis se observaron alrededor de 25 campos, de los que se muestran, por ser las más representativas, las siguientes imágenes al microscopio.

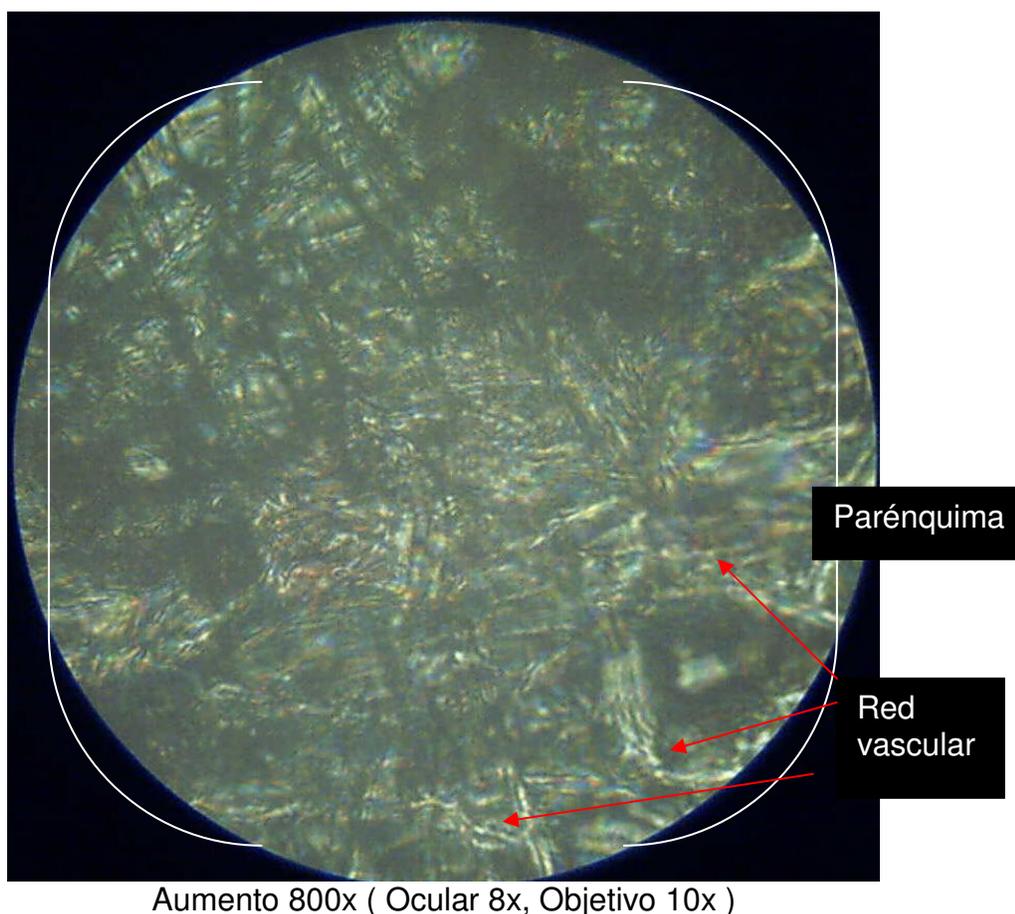
Figura A



Aumento 800x (Ocular 8x, Objetivo 10x)

() Puntos birrefringentes, maclas de oxalato de calcio

Figura B



En la figura A se logra observar en el parénquima escasos puntos birrefringentes al microscopio que se identifican como maclas de oxalato de calcio y la red vascular, pero no se localizan tricomas y granos de polen, éstos últimos eliminados durante el tratamiento; la figura B solo se observa el parénquima con la red vascular, sin puntos birrefringentes.

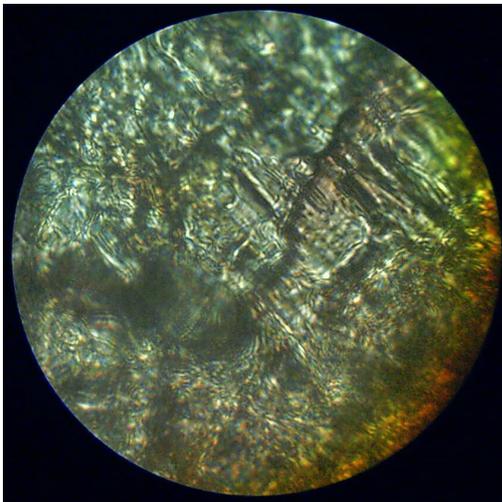
Las imágenes observadas cumplen parcialmente con la descripción farmacopéica en cuanto a las estructuras presentes. Un punto crítico de la determinación es obtener una muestra translúcida que permita ser observada al microscopio para lo cual la solución clarificante de hidrato de cloral es la más recomendable, sin embargo hay que recordar que el hidrato de cloral es un reactivo con restricción para la venta y uso, esto complica la adquisición en un laboratorio destinado a la enseñanza.

La literatura refiere el empleo de otros agentes clarificantes como son la Solución de prueba de ácido acético (300 g/ 1 L)^(20,24); con el fin de realizar una adaptación de la técnica para la práctica en el laboratorio se realizó el siguiente procedimiento:

- a) Preparar 50 mL de la Solución de Prueba de ácido acético, mezclar 13 mL de ácido acético RA con 37 mL de agua destilada.
- b) Colocar una muestra de la Flor de jamaica pulverizada en un tubo de ensaye y verter 5 mL de la Solución de Prueba, agitar, permitir que la solución actúe sobre la muestra
- c) Cambiar inicialmente cada 3 horas la Solución de Prueba las primeras 12 horas y posteriormente 2 veces al día las siguientes 48 horas, hasta lograr observar el material claro.
- d) Colocar la muestra en un portaobjetos. Si la muestra es gruesa realizar los cortes necesarios hasta obtener una preparación delgada, colocar el cubreobjetos y observar al microscopio.

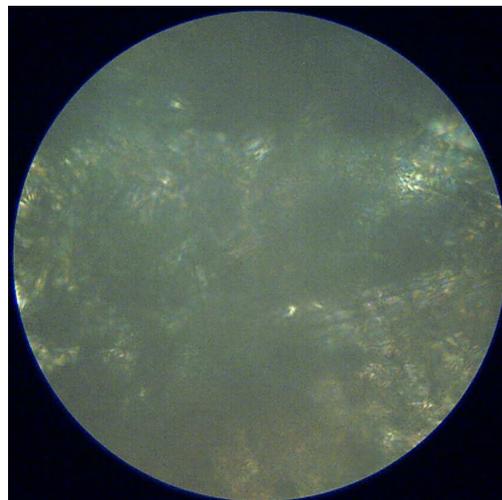
Una vez seguido el procedimiento de la muestra se observaron alrededor de 12 campos de los cuales se muestran las imágenes siguientes:

Figura C



Aumento 800x (Ocular 8x, Objetivo 10x)

Figura D



Aumento 800x (Ocular 8x, Objetivo 10x)

En la figura C se observa que se logró de forma parcial clarificar la muestra y es evidente que no se logran observar estructuras birrefringentes, la red vascular del parénquima se observa con dificultad. En la figura D, no se obtuvo una muestra lo suficientemente clara para observar las estructuras internas. En los casos C y D no se logran observar los tricomas o granos de polen.

Con el resultado de la determinación no se puede emitir un juicio respecto a la presencia de las estructuras microscópicas esperadas, se considera que no se logró realizar la prueba apropiadamente y se requiere mayor entrenamiento en la preparación y observación microscópica de muestras de materiales herbarios.

V.3. Ensayo de identidad

El ensayo de identidad Cromatografía en Capa Fina se realizó de acuerdo a la metodología descrita en la Farmacopea Alemana (DBA 10).

Se muestra la fotografía de la placa cromatográfica realizada en celulosa (fase estacionaria) y empleando como fase móvil (agua: ácido fórmico anhidro: ácido clorhídrico al 25% : butanol (6:12:12 : 70)). se analizaron los extractos de tres diferentes muestras de Flor de Jamaica.

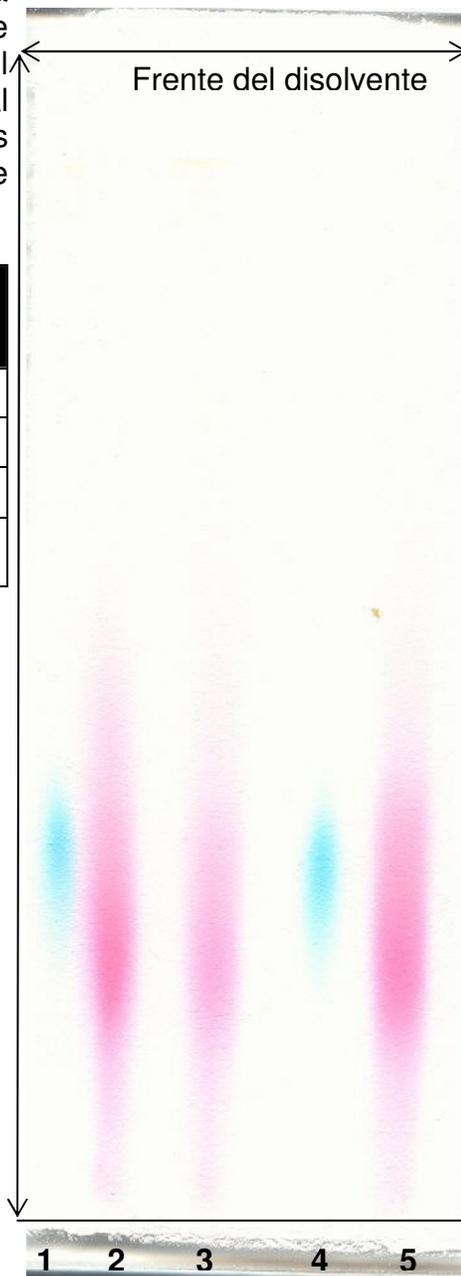
Muestra	Cantidad de muestra extraída (g)	Carril
A	1,0013	2
B	1,0007	3
C	1,0023	5
Sol. Referencia	Azul de metileno (0,5 mg / mL)	1 y 4

En la zona de corrimiento de la solución de referencia (carril 1 y 4) se observa una mancha azul.

En los carriles de las muestras A, B y C se observa en el punto medio entre la línea de aplicación y la zona azul de la mancha de la referencia (carril 1 y 4) hay una zona intensa rojo violeta e inmediatamente arriba una zona rosa menos intensa, por arriba de la zona azul de la referencia se encuentran una zona rosada, cerca de la línea de aplicación se observa en los tres casos un color lila.

Al comparar entre sí las manchas de las muestras A, B y C, se observan ligeros cambios en la intensidad de las zonas de las manchas, que está relacionado con la cantidad de antocianinas, pero puede decirse que presentan un patrón similar de corrida.

EL resultado de la determinación en los tres casos de las muestras analizadas, cumplen con la exigencia farmacopéica.



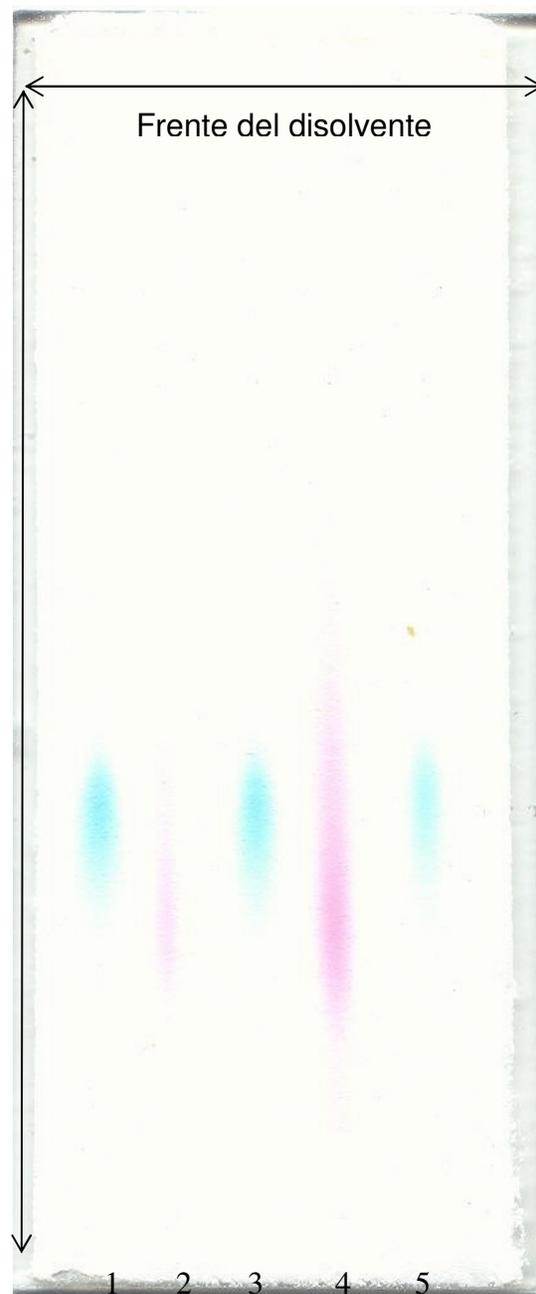
En la metodología descrita la cantidad aplicada en la placa cromatográfica del extracto de la muestra específica como cantidad de muestra 20 μL , sin embargo era importante determinar si con una cantidad menor del extracto se lograba obtener una buena resolución que permita emitir un resultado.

En la imagen de la derecha se presenta una placa cromatográfica donde se probó el extracto de la muestra A, aplicando dos diferentes volúmenes del extracto.

En el carril 2 y 4 se aplicó el extracto de la muestra A, 5 μL y 10 μL respectivamente; en los carriles 1, 3 y 5 Solución de referencia de azul de metileno.

Se observa que la cantidad de muestra menor a la indicada en la especificación no permite identificar de forma clara las zonas descritas en la especificación.

La cantidad aplicada del extracto de la muestra es entonces un punto crítico para realizar una evaluación eficiente de la determinación.



V.4. Materia extraña

En la tabla se muestra los datos obtenidos para el cálculo de la cantidad de materia extraña presente en la muestra A.

Muestra	Peso de la muestra (g)	Cantidad de materia extraña (g)	Materia extraña (%)	Descripción de la materia extraña
1	250,0	0,8 g	0,3	Semillas, fragmentos de cáscara seca y polvo.
2	250,0	1,0 g	0,4	Semillas, fragmentos de cáscara seca, fibra y polvo
		Promedio	0,35 ≈ 0,4	
		Desviación estándar	0,06	

Comparando con la especificación (Máximo 2,0 %), la muestra contiene la cantidad de materia extraña dentro del límite de la especificación y el tipo de materia extraña es considerado como no peligroso para la salud.

En el anexo N. 1 se encuentran los cálculos realizados para ésta y las determinaciones sucesivas.

V.5. Pérdida por secado

Los resultados de la prueba requeridos para el cálculo de la pérdida por secado se muestran a continuación:

Muestra	Peso de la muestra secada al aire (g)	Peso de la muestra secada en la estufa (g)	Pérdida por secado de la muestra (g)	Pérdida por secado (%)
1	1,0220	0,8686	0,1534	15,0
2	1,0244	0,8719	0,1525	14,9
3	1,0554	0,9026	0,1528	14,5
4	1,0092	0,8646	0,1446	14,3
			Promedio	14,7 ≈ 15
			Desviación estándar	0,3
			D.E.R.	2,2 %

El resultado de la prueba 15 %, se encuentra dentro del límite especificado (No más del 15 %). Por lo que la muestra A cumple con la especificación de la determinación.

V.6. Cenizas totales

El límite de cenizas totales para el material herbario de flor de Jamaica es no más de 12 %. En la tabla que se muestran a continuación se presentan los datos requeridos para el cálculo del contenido de cenizas totales en la muestra A; sin embargo no se puede emitir un resultado de la prueba debido a que en la réplica se rompió el crisol después del proceso de calcinación en la mufla.

Muestra	Peso de la muestra secada al aire (g)	Peso de las cenizas de la muestra (g)	Cenizas totales (%)
1	1,1626	0,0594	5,1
2	1,0729	No valido	

V.7. Material extraíble

Resultados obtenidos para calcular la cantidad de Material extraíble en la muestra A.

Muestra	Peso de la muestra secada al aire (g)	Peso del residuo (g)	Material extraíble (%)
1	5,0214	0,4704	46,8
2	5,0136	0,4733	47,2
3	5,0136	0,4709	47,0
4	5,0214	0,4812	47,9
		Promedio	47,2
		Desviación estándar	0,5
		DER	1,0 %

La cantidad de Material extraíble 47,2 %, cumple con la especificación (no menos del 40,0 %).

V.8. Valoración

- a) Resultados obtenidos para realizar los cálculos de la valoración de la Muestra A.

Muestra	Peso de la muestra secada al aire (g)	Peso de la muestra corregida de acuerdo a la pérdida por secado (g)	Volumen de la Solución Valorada de Hidróxido de Sodio 0.1057 N (D.E.R 0.3)	% de Ácidos Orgánicos calculados como ácido cítrico
1	0,9726	0,8296	3,42	14,0
2	1,0801	0,9213	3,80	14,0
3	1,0094	0,8610	3,68	14,5
			Promedio	14,1
			Desviación estándar	0,3
			D.E.R	2,1 %

Nota: En el anexo N. 1 se encuentran los cálculos realizados para la estandarización de la Solución Valorada de Hidróxido de sodio 0,1057 N (D.E.R 0,3 %).

El resultado obtenido 14,1 %, cumple con la especificación (No menos del 13.5 %),

- b) Valoración de la Muestra B y la Muestra C.

Se realizó el mismo procedimiento de manera simultánea de las muestra B y C, de acuerdo con la referencia, empleando para la titulación la misma Solución Valorada de Hidróxido de sodio 0,1057 N (D.E.R 0,3 %) que se utilizó en la muestra A, sin embargo con la apreciación visual del punto final de la valoración fue complicado detectarlo, ya que las muestras presentaron diferentes tonalidades de color, entre sí y con respecto en lo observado en la muestra A.

Con los resultados obtenidos del análisis de las Muestras B y C no se consiguió obtener repetibilidad durante el proceso de titulación, los valores de desviación estándar relativa en ambos casos oscilaron de 3,9 % hasta 9,3 %; tomando en cuenta que el análisis se realizó en muestras uniformes, la variabilidad observada solo puede adjudicarse al procedimiento seguido de valoración. En el capítulo de Discusión de Resultados, se analizan las posibles causas de esta variación.

V.9. Color de la solución

El análisis se efectuó para las muestras A, B y C, de las que se pesaron las siguientes cantidades:

Muestra	Peso de la muestra (g)
A	0,4002
B	0,3999
C	0,3999

Se siguió el tratamiento para cada una tal como se indica en la referencia. Las tres muestras se prepararon de manera simultánea.

La referencia se preparó pesando 6,0012 g de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ RA, disolviendo y aforando a un volumen de 100,0 mL con ácido clorhídrico al 36 % : agua (25:975), de acuerdo al procedimiento farmacopéico.

La evaluación de la prueba se realizó en tubos Nessler, a la luz del día.

A continuación se muestra los resultados de la prueba.

En la imagen de la derecha se observa cuatro tubos Nessler que corresponden a:

Tubo marcado	Contienen:
R	Solución de referencia de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$
1	Muestra A
2	Muestra B
3	Muestra C



De la comparación de las muestras con respecto a la Solución de referencia podemos decir que: la Muestra A y C son más intensas que la solución de referencia, por tanto cumplen satisfactoriamente la prueba.

La Muestra B es de menor intensidad que la Solución de referencia, por lo que no cumple con la especificación.

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

VI. 1. Muestreo del material herbario

Es importante que el alumno tenga la oportunidad de realizar este tipo de trabajo, ya que obtener una muestra “homogénea” de material herbario resulta difícil. El manejo de la materia prima seleccionada no representa riesgos para la salud. Esta actividad permitirá constatar la trascendencia de la calidad de la muestra en los resultados analíticos.

VI.2 Descripción macroscópica

Esta prueba introduce al estudio de la botánica, lo que implica que el alumno investigue y conozca aspectos básicos de la anatomía vegetal para lograr el objetivo de la determinación.

No requiere de condiciones ambientales especiales, es factible de implementar en el laboratorio destinado a la asignatura de Análisis de Medicamentos. El material requerido consiste en caja de Petri, papel milimétrico, regla o Vernier, pinzas de disección, bisturí o navaja.

Se debe contar con una muestra sin fragmentar. Las muestras molidas y envasadas para preparar infusiones no son apropiadas para realizar la determinación.

El análisis por duplicado requiere de aproximadamente 25 minutos.

Se recomienda que realizado el muestreo y obtenida la muestra promedio se continúe con la obtención de la muestra para la descripción macroscópica y se realice la determinación.

VI. 2. Descripción microscópica

El análisis microscópico de muestras vegetales es novedoso para los alumnos, y representa una experiencia enriquecedora.

Para realizar el análisis dentro del laboratorio se requiere de un microscopio de contraste de fases para detección de estructuras birrefringentes como las maclas de oxalato de calcio mencionadas en la descripción farmacopéica.

El material requerido para realizar la prueba son: portaobjetos, cubreobjetos, bisturí, mechero, gotero.

La identificación de las estructuras microscópicas es difícil, se recomienda contar con bibliografía o un material audiovisual que muestre de manera gráfica las estructuras que se describen en la especificación.

La metodología descrita en FHEUM señala utilizar para la Solución de Prueba el reactivo de Hidrato de cloral, que es la mejor opción como agente clarificante para lograr evidenciar las maclas de oxalato de calcio de acuerdo a la bibliografía⁽¹⁹⁾, ya que como se hizo evidente en la parte experimental la Solución de Prueba de ácido acético no es una alternativa apropiada para evidenciar las estructuras microscópicas. Sin embargo, el Hidrato de cloral es un compuesto controlado difícil de conseguir y podría ser una limitante para realizar la prueba.

El tiempo aproximado de realización de la prueba puede variar de acuerdo a la experiencia que se tenga en la preparación de muestras vegetales. De emplearse la Solución de Prueba de Hidrato de cloral el análisis aproximadamente puede realizarse en 1 hora.

VI. 3. Ensayo de identidad

Al implementar una prueba farmacopéica de identificación de compuestos químicos de la Flor de Jamaica descrita en la Farmacopea Alemana (DBA 10), permite que el alumno conozca otro texto oficial y se familiarice con su manejo e interpretación.

Con respecto a los resultados obtenidos se observa que la determinación es factible de realizarse en el laboratorio, donde el alumno al seguir la metodología puede realizar el análisis y la interpretación de una muestra compleja como es la de un extracto herbario.

La técnica permite evaluar diferentes muestras de manera simultánea y se requiere de : placas de vidrio rectangulares, una superficie horizontal, cámara cromatografica, agitador magnético, varilla de vidrio, capilares, frascos opacos, matraz de fondo plano de 50 mL, barra magnética, pipetas graduadas de diferentes volúmenes, probeta, embudo, laboratorio ventilado, estufa.

Para realizar la prueba se debe organizar el trabajo experimental, ya que la preparación de las placas cromatográficas, el secado y la activación requieren de aproximadamente 3 horas a temperatura ambiente. La preparación de la muestra, fase móvil, estándar de referencia y corrimiento del cromatograma aproximadamente requiere de 1,5 horas.

La metodología descrita en la Farmacopea Alemana (DBA 10), tiene como ventajas que los reactivos necesarios para la prueba son de fácil adquisición, no costosos, su manejo no representan un riesgo potencial a la salud, los residuos generados de la prueba pueden tratarse fácilmente, antes de su disposición final, razones por las que se recomienda utilizar dentro de un laboratorio de docencia.

Las placas cromatográficas se pueden secar previo a la activación en una estufa a una temperatura de 30 °C por 1,5 horas, no se recomienda secar después de la activación con Solución HCl 1 %.

Para la elección de la fase estacionaria se realizó un ensayo comparando placas de sílica gel y la de celulosa. En el caso de la placa de sílica gel se desprendió después del tratamiento con la fase móvil. Para el análisis de antocianinas se reporta el empleo de papel Whatman No. 1 con fase móvil de composición semejante al empleado experimentalmente con buenos resultados⁽³²⁾.

La metodología de identificación que aparece descrita en la Farmacopea Europea es una opción alternativa adicional a la de la Farmacopea Alemana.

VI. 4. Materia Extraña

La materia prima elegida para el estudio tiene como ventaja que no existen especies similares con las que se adultere el producto y se requiere de material común en el laboratorio.

Los objetivos académicos son : clasificar el tipo de materia extraña, comprender la importancia de la prueba y los puntos críticos de la misma.

Se requiere aproximadamente 30 minutos, para realizar el análisis por duplicado.

VI. 5. Pérdida por secado

La realización de la prueba permitirá al alumno aplicar el concepto de “material a peso constante” y reconocer el impacto en el material herbario de la presencia de impurezas volátiles y agua.

Se requiere contar con una estufa asignada a la materia y con seguridad respecto a su uso, pesafiltros, balanza analítica, pinzas, desecadores.

Espacio físico en el laboratorio donde pueda permanecer la estufa y los desecadores durante el proceso de la prueba.

Para tener el material a peso constante se requiere de alrededor de 2 horas, y en el análisis de las muestra por duplicado se requiere alrededor de 3,5 horas. El tiempo necesario para realizar la determinación rebasa el destinado para la práctica, sin embargo se puede organizar el trabajo para realizarlo en dos sesiones.

VI. 6. Cenizas totales

Esta prueba permite al alumno comprender que la cantidad de constituyentes inorgánicos son un parámetro de calidad del material herbario, por medio del cual se puede detectar la adulteración por estos materiales.

Se requiere de una mufla, un número suficiente de crisoles para realizar el análisis por duplicado, pinzas, desecadores. Espacio físico para el equipo, desecadores, libre se corrientes de aire, campana de extracción en donde realizar la incineración con mechero.

Para obtener los crisoles a peso constante se requiere por lo menos 2 horas; en el tratamiento de la muestra y análisis se requiere por lo menos de 3,5 horas.

VI. 7. Material extraíble

La determinación es importante ya que es una manera indirecta para conocer la cantidad de principios activos extraíbles con agua que tiene la materia prima.

El tiempo necesario para efectuar la determinación es una desventaja para incluirse dentro del esquema de la práctica debido a que la extracción de los constituyentes activos requiere de 6 horas y adicionalmente son necesarias para la obtención del residuo seco del extracto alrededor de 12 horas.

VI. 8. Valoración

La titulación de un extracto proveniente de un material herbario constituye un reto para el analista, ya que por ser una matriz compleja cuyos componentes no se pueden identificar y conocer la proporción en que se presentan (pueden variar de una muestra a otra), no es posible elaborar un blanco de la determinación.

El análisis por triplicado requiere de aproximadamente 3,5 horas, además se sugiere la conveniencia de contar con microburetas.

De los resultados obtenidos en esta determinación se observa que existe problema en la repetibilidad de los mismos. De la revisión y análisis del procedimiento seguido, se concluye que el principal problema es la detección del punto de equivalencia de la valoración. Debido a esto, se realizó un ensayo en

donde se estudió para las Muestras A, B y C la relación entre el cambio de color de la muestra con respecto al pH.

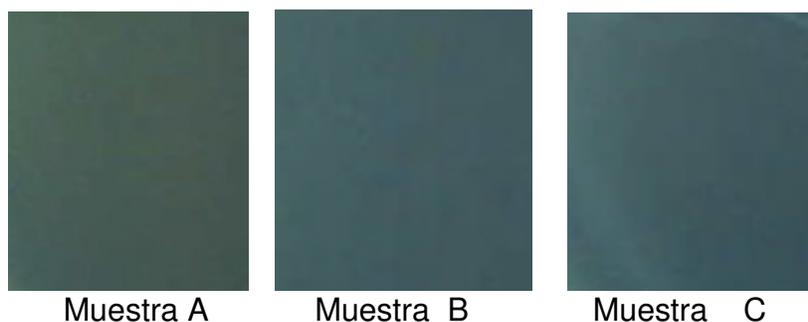
A continuación se muestran los datos de pH y las imágenes obtenidas:

						
	Inicial			Antes del punto de equivalencia		
Muestras	A	B	C	A	B	C
pH	2,62	2,96	2,65	4,06	4,14	4,01
						
	"Punto de equivalencia"			Después del punto de equivalencia		
Muestra	A	B	C	A	B	C
pH	7,89	7,93	8,03	10,06	9,99	10,01

El "punto de equivalencia" de la valoración de las diferentes muestras varía en tonalidad de color cuando se trata de muestras de origen diferente. Se estableció como punto de equivalencia la ausencia de la coloración roja y sólo se observará el color verde grisáceo. Sin embargo como puede distinguirse en la tabla anterior

los valores de pH, justo en el punto establecido como equivalencia, varían significativamente.

Un acercamiento al color de las soluciones de las muestras valoradas permite observar que a un valor de pH neutro (7,0) las tres muestras tienen diferentes tonalidades.



Esta característica está relacionada con la proporción de los componentes coloridos. El analista experto no tendrá problema en atender a estos cambios, pero para la persona que se inicia en este tipo de el análisis de muestras quizá sea más claro determinar el punto final mediante una medición potenciométrica de acuerdo a como lo establece la Farmacopea Europea y con ello se evita incurrir en errores de apreciación y se logra la repetibilidad de los resultados.

VI. 9. Color de la solución

La determinación se considera ilustrativa ya que permite evaluar el contenido mínimo requerido de constituyentes (antocianinas), como un parámetro de calidad del material herbario, además de ser una determinación farmacopéica oficial en la Farmacopea Alemana y Farmacopea Europea, que enriquece la información que tiene el alumno.

La prueba se realiza en aproximadamente 1 hora y requiere de material común, los residuos generados pueden tratarse fácilmente antes de su disposición final.

VII. CONCLUSIONES

El diseño propuesto para la práctica de la asignatura de Análisis de Medicamentos incluye las siguientes actividades:

- ❖ Realizar el muestreo de la materia prima Flor de Jamaica, para la obtención de la muestra promedio y la muestra de prueba.
- ❖ Las determinaciones farmacopéicas de FHEUM que forman parte de la Monografía Flor de Jamaica, que se sugieren incluir dentro del trabajo experimental, debido a que se cuenta con los recursos materiales, de infraestructura y tiempo destinado para la sesión práctica son: Descripción macroscópica, Materia extraña y Valoración.

Respecto al análisis microscópico la principal dificultad para llevar a cabo el análisis es conseguir el reactivo Hidrato de cloral, por ser una sustancia de venta controlada.

Las pruebas de Ensayo de identidad de FHEUM para su implementación tiene como desventaja la adquisición de los estándares de identificación (Cloruro de cianidina y Cloruro de delfinidina), sin embargo por ser una determinación que ilustra la identificación de componentes químicos en un extracto herbolario se consideró ofrecer como una alternativa el Ensayo de identidad descrito en la Farmacopea Alemana (DBA 10) que resultó factible de realizar en cuanto a los recursos materiales y de infraestructura, sin embargo requiere de organizar el trabajo experimental ya que se requieren de dos sesiones para realizar la metodología descrita y obtener los resultados.

Las determinaciones : Pérdida por secado, Cenizas totales y Material extraíble, permiten al alumno manejar conceptos básicos en el análisis como es el de “material a peso constante”, además de no estar incluidas en ninguna de las prácticas vigentes de la asignatura. Actualmente no se cuenta con: estufas, muflas y espacio físico donde se pueda mantener con seguridad las muestras durante el proceso de análisis. Sin embargo se sugiere subsanar las dificultades mencionadas e incluir de ser posible las tres determinaciones.

La realización de la determinación Color de la Solución que no se encuentra publicada en la FHEUM, brinda una oportunidad para que el alumno utilice otros textos oficiales sobre el análisis de productos herbolarios. Además, la implementación de la prueba puede realizarse con los recursos materiales y la infraestructura de los laboratorios de docencia en tiempo disponible para la sesión práctica.

EL análisis completo de la materia prima, en un laboratorio en la Industria, tiene que incluir las determinaciones señaladas en las pruebas Generales en FHEUM: Metales pesados, Plaguicidas y Determinación de microorganismos.

La determinación de Metales Pesados puede implementarse en el laboratorio de docencia, sin embargo la infraestructura actual no es suficiente para desarrollarla, ya que se necesita una mufla porque se determina en las cenizas.

La determinación de plaguicidas no se recomienda para un laboratorio de docencia ya que las sustancias de referencia que se utilizan son tóxicas y existe un problema adicional para el manejo los residuos que se generan.

Para la determinación de microorganismos existen otros laboratorios de docencia que cuentan con la infraestructura adecuada para este tipo de trabajo, por lo que se sugiere se investigue en el Departamento de Biología si se realiza alguna práctica con contenido semejante a los establecido en FHEUM para material herbario.

La determinación de aflatoxinas no se recomienda implementar en un laboratorio de docencia debido a que no se tiene el equipo y la infraestructura necesaria para realizarla; así como la adquisición, el almacenamiento, manejo y toxicidad de los estándares necesarios para la determinación requieren de un analista experto en la materia debido a las dificultades que se plantearon anteriormente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Organización Mundial de la Salud, **Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2002- 2005**, Ginebra, pp 65.
2. Organización Mundial de la Salud, **Pautas de investigación para la evaluación de la inocuidad y la eficacia de los medicamentos herbarios**, Manila, 1993, pp 75 .
3. Secretaría de Salud, **Reglamento de Insumos para la salud**, México 1998, pp 22.
4. Sistema Federal Sanitario, **Red Sanitaria**, México, Vol.1 Núm. 3, Octubre-Diciembre 2005.
5. Organización Mundial de la Salud, **Situación reglamentaria de los medicamentos, Una reseña mundial**, Ginebra 2000, pp 74.
6. Bruneton, Jean, **Pharmacognosy Phytochemistry Medicinal Plants**, Lavoisier Publishing, 2a. Edición, París 1993, pp 23.
7. Perrot, E., **Matières Premiéres usuelles du Règne Vegetal**, Masson Editores, 1ª. Edición, París 1943-1944, pp 952-960.
8. Gaedcke Waldesch, Frauke & Steinhoff Königswinter, Barbara, **Herbal Medicinal Products**, Editorial Medpham, Scientific Publishers Stuttgart, Alemania 2003, pp176.
9. Liu, Jer-Yuh, Chen, Chang-Che, Wang, Wen-Hong, Hsu, Jeng-Dong, Yang, Mon-Yuan, Wang, Chau-Jong, **The protective effects of Hibiscus sabdariffa extract on CCl₄ induced liver fibrosis in rats**, Food & Chemical Toxicology; Mar 2006, Vol. 44 Issue 3, pp 336-343.
10. Tong, Xuhui, Terahara, Norihiko, Luo, Dong, Fujii, Makoto, **Delphinidin 3-sambubioside, a Hibiscus anthocyanin, induces apoptosis in human leukemia cells through reactive oxygen species-mediated mitochondrial pathway**, Archives of Biochemistry & Biophysics; Aug 2005, Vol. 440 Issue1, pp 101-109, 9p.
11. Chang, Yun-Ching, Huang, Hui-Pei, Hsu, Jeng-Dong, Yang, Shun-Fa, Wang, Chau-Jong, **Hibiscus anthocyanins rich extract-induced apoptotic cell death in human promyelocytic leukemia cells**, Toxicology & Applied Pharmacology; Jun2005, Vol. 205 Issue 3, pp 201-212, 12p.

12. Brunold, C., ***Polysaccharides from Hibiscus sabdariffa Flowers Stimulate Proliferation and Differentiation of Human Keratinocytes***, *Planta Medica*; Apr 2004, Vol. 70 Issue 4, pp 370-373.
13. Gradinaru, G., **Thermal stability of Hibiscus sabdariffa L. anthocyanins in solution and in solid state: effects of copigmentation and glass transition**, *Food Chemistry*; Nov 2003, Vol. 83 Issue 3, pp 423, 14 p.
14. Akindahunsi, A., Olaleye, M.T., **Toxicological investigation of aqueous-methanolic extract of the calyces of Hibiscus sabdariffa L.**, *Journal of Ethnopharmacology*; Nov 2003, Vol. 89 Issue 1, pp161, 4 p
15. Peng-Kong Wong, Salmah Yusof, Ghazali, Y B Che Man, ***Physico-chemical characteristics of roselle (Hibiscus sabdariffa L.)***, *Nutrition and Food Science*, Bradford: Mar-Jun 2002. Vol. 32, Iss. 2/3, pp. 68, 6 p.
16. Paulo H, Marco, Levi María Alice, Scarminio Leda, Poppi, Trevisan ,Marcello, **Exploratory Análisis of Simultaneous Degradation of Anthocyanins in the calyces of flowers of the Hibiscus sabdariffa species by PARAFAC Model**, *Analytical Sciences*, December 2005, Vol. 21, pp 1523-1527, 5 p.
17. Ivan Ross, **Medical Plants of the world, Chemical constituents, Traditional and Modern, Medicinal, Uses**, Humana Press Inc, Totowa, New Jersey 1999,. pp170.
18. Badreldin H., Nasser AL Wabel, Blunden, Gerald, ***Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L.***, *Phytotherapy Research*, 2005 , Vol. 19,Iss 5 pp 369.
19. United States Pharmacopeia Convention, **The United States Pharmacopeia (USP 27 / NF 22)** Inc., 2004 .
20. Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, **Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos**, 1ª. Edición, México 2001, pp176.
21. Commission nationale de la Pharmacopée, **Pharmacopée Francaise**, 10ª. Edición, 7º. Suplemento, Francia 1989, p V.6.20.2,VII.1.1, 133 (1-3).
22. Deutsche Arzneibuch-Kommission, **Deutsches Arzneibuch (DBA 10)**, Deutscher Apotheker Verlag, Stuttgart, Alemania 1998. (Farmacopea Alemana)
23. Council of Europe Strasbourg, **European Pharmacopoeia**, 4a. Edición, Francia 2001, pp 1866.

24. Organización Mundial de la Salud, **Quality Control Methods for medicinal plant materials**, Genova 1988.
25. Secretaria de Salud, **Ley General de Salud**, México 2000, pp 103.
26. Quintero Hernández, C. M. 2004. **Efecto de la copigmentación sobre el color y estabilidad del pigmento en un sistema modelo (bebida), usando antocianina de rábano**. Departamento de Química y Biología, Escuela de Ciencias, Universidad de las Américas, Puebla. Mayo. 2004.
27. Vidal Casero, M^a del Carmen, **El desarrollo de la legislación sobre plantas medicinales en la comunidad Europea y su incorporación en el ordenamiento jurídico español**, DS Vol. 11, Núm. 1, Enero-Junio 2003 pp 85-108.
28. López, L.V. **Micotoxinas y Micotoxicosis (I) Aflatoxinas**, Revista Alimentos, volumen 10, N^o3. Septiembre 1985, p 32- 38.
29. Medina B. , Juan Carlos, **Problemas en la cuantificación de micotoxinas y niveles de contaminación en México**, NUTEK S.A. de C.V. Tehuacán, Pue. México 1994, [en línea] Disponible en internet : < <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB482S/AB482S14.htm> >,Control de calidad de insumos y dietas acuícolas , AQUILA - Apoyo a las Actividades Regionales de Acuicultura para América Latina y el Caribe Castro Campos, E., (ed.),Título de la serie: Project reports - No.16 , 1994 p. 269. Archivo de Documentos de la FAO.
30. Merck & Company, **Merk Index**, New Jersey, USA 2001, 13^a.edición [CD-ROM].
31. Granger Bisset, Norman & Philipson Landon,David, **Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals**, Edit. Med Pharm, Stuttgar 1994, Alemania, p 267-268.
32. Harborne J.B., **The chromatographic identification of anthocyanin pigments**, Journal of chromatography, volumen I , 1958, p 473-488, 15 p.
33. Miller, James & Miller, Jane, **Estadística y Quimiometria para Química Analítica**, Editorial Pearson ,4^a. Edición, pp 278.

ANEXO I**Cálculo realizado para la determinación de Materia extraña**

Muestra 1

$$100,0 \text{ g muestra} \left(\frac{0,8 \text{ g materia extraña}}{250,0 \text{ g de muestra}} \right) = 0,32 \text{ g de materia extraña / } 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 0,3 %

Muestra 2

$$100,0 \text{ g muestra} \left(\frac{1,0 \text{ g materia extraña}}{250,0 \text{ g de muestra}} \right) = 0,40 \text{ g de materia extraña / } 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 0,4 %

Cálculo realizado para la determinación de Pérdida por secado

Muestra 1

$$1,0220 \text{ g} - 0,8686 \text{ g} = 0,1534 \text{ g}$$

$$100,0 \text{ g de muestra} \left(\frac{0,1534 \text{ g pérdida}}{1,0220 \text{ g de muestra}} \right) = 15,009 \text{ g de pérdida / } 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 15,0%

Muestra 2

$$1,0244 \text{ g} - 0,8719 \text{ g} = 0,1525 \text{ g}$$

$$100,0 \text{ g de muestra} \left(\frac{0,1525 \text{ g pérdida}}{1,0244 \text{ g de muestra}} \right) = 14,886 \text{ g de pérdida / } 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 14,9 %

Muestra 3

$$1,0554 \text{ g} - 0,9026 \text{ g} = 0,1528 \text{ g}$$

$$100,0 \text{ g de muestra} \left(\frac{0,1528 \text{ g pérdida}}{1,0554 \text{ g de muestra}} \right) = 14,477 \text{ g de pérdida / } 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 14,5 %

Muestra 4

$$1,0092 \text{ g} - 0,8646 \text{ g} = 0,1446 \text{ g}$$

$$100,0 \text{ g de muestra} \left(\frac{0,1446 \text{ g pérdida}}{1,0092 \text{ g de muestra}} \right) = 14,32 \text{ g de pérdida} / 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 14,3 %

Cálculo realizado para la determinación de Cenizas totales

Muestra 1

$$100,0 \text{ g de muestra} \left(\frac{0,0594 \text{ g de cenizas}}{1,1626 \text{ g de muestra}} \right) = 5,11 \text{ g de cenizas} / 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 5,1%

Cálculo realizado para la determinación de Material extraíble

Muestra 1

$$0,4704 \text{ g residuo} \left(\frac{100,0 \text{ mL}}{20,0 \text{ mL}} \right) \left(\frac{100,0 \text{ g de muestra}}{5,0214 \text{ g de muestra}} \right) = 46,8 \text{ g de residuo} / 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 46.8 %

Muestra 2

$$0,4733 \text{ g residuo} \left(\frac{100,0 \text{ mL}}{20,0 \text{ mL}} \right) \left(\frac{100,0 \text{ g de muestra}}{5,0136 \text{ g de muestra}} \right) = 47,2 \text{ g de residuo} / 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 47,2 %

Muestra 3

$$0,4709 \text{ g residuo} \left(\frac{100,0 \text{ mL}}{20,0 \text{ mL}} \right) \left(\frac{100,0 \text{ g de muestra}}{5,0136 \text{ g de muestra}} \right) = 46,96 \text{ g de residuo} / 100,0 \text{ g de muestra}$$

46.9 6 ≈ 47.0 g de residuo / 100.0 g de muestra

Resultado 47,0 %

Muestra 4

$$0,4812 \text{ g residuo} \left(\frac{100,0 \text{ mL}}{20,0 \text{ mL}} \right) \left(\frac{100,0 \text{ g de muestra}}{5,0214 \text{ g de muestra}} \right) = 47,9 \text{ g de residuo} / 100,0 \text{ g de muestra}$$

Resultado 47,9 %

Cálculos realizados para la Valoración

1. Cálculo de la estandarización de la Solución Valorada de Hidróxido de Sodio.

Muestra	Peso del biftalato de potasio (g)	Volumen gastado de la Solución de Hidróxido de Sodio (mL)	Normalidad de la Solución Valorada de Hidróxido (Eq / L)
1	0,4994	23,2	0,1054
2	0,4049	18,7	0,1060
3	0,5929	27,5	0,1056
		Promedio	0,1057
		Desviación estándar	0,0003
		D.E.R.	0,3 %

Muestra 1

$$499,4\text{g de biftalato de potasio} \left(\frac{1 \text{ mEq biftalato de potasio}}{204,2 \text{ mg biftalato de potasio}} \right) \left(\frac{1 \text{ mEq de NaOH}}{1 \text{ mEq biftalato potasio}} \right) \left(\frac{1}{23,2\text{mL}} \right) = 0,1054\text{mEq/ mL}$$

Muestra 2

$$404,9\text{g de biftalato de potasio} \left(\frac{1 \text{ mEq biftalato de potasio}}{204,2 \text{ mg biftalato de potasio}} \right) \left(\frac{1 \text{ mEq de NaOH}}{1 \text{ mEq biftalato potasio}} \right) \left(\frac{1}{18,7\text{mL}} \right) = 0,1060\text{mEq/ mL}$$

Muestra 3

$$592,9\text{g de biftalato de potasio} \left(\frac{1 \text{ mEq biftalato de potasio}}{204,2 \text{ mg biftalato de potasio}} \right) \left(\frac{1 \text{ mEq de NaOH}}{1 \text{ mEq biftalato potasio}} \right) \left(\frac{1}{27,5\text{mL}} \right) = 0,1056\text{mEq/ mL}$$

2. Cálculo del % de ácidos orgánicos en la muestra A, calculados como ácido cítrico y en base seca.

- a) Corrección del peso de la muestra de acuerdo a la pérdida por secado (14.7%).

Muestra 1

$$0,9726 - (0,9726 \times 0,147) = 0,8296$$

Muestra 2

$$1,0801 - (1,0801 \times 0,147) = 0,9213$$

Muestra 3

$$1,0094 - (1,0094 \times 0,147) = 0,8610$$

b) Cálculo del contenido % de ácidos orgánicos, calculados como ácido cítrico y en base seca.

Muestra 1

$$3,42 \text{ mL SV NaOH} \left(\frac{0,1057 \text{ mEq NaOH}}{1,0 \text{ mL SV NaOH}} \right) \left(\frac{1 \text{ mEq ácido cítrico}}{1 \text{ mEq NaOH}} \right) \left(\frac{50,0 \text{ mL extracto}}{10,0 \text{ mL extracto}} \right) \left(\frac{192,2 \text{ mg ácido cítrico}}{3 \text{ mEq ácido cítrico}} \right) = 115,79 \text{ mg ácido cítrico}$$

$$100,0 \text{ g muestra} \left(\frac{115,79 \text{ mg ácido cítrico}}{0,8296 \text{ g de muestra}} \right) \left(\frac{1,0 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) = 13,95 \text{ g ácido cítrico / 100,0 g de muestra}$$

$$13,95 \quad \% \approx 14,0\%$$

Muestra 2

$$3,80 \text{ mL SV NaOH} \left(\frac{0,1057 \text{ mEq NaOH}}{1,0 \text{ mL SV NaOH}} \right) \left(\frac{1 \text{ mEq ácido cítrico}}{1 \text{ mEq NaOH}} \right) \left(\frac{50,0 \text{ mL extracto}}{10,0 \text{ mL extracto}} \right) \left(\frac{192,2 \text{ mg ácido cítrico}}{3 \text{ mEq ácido cítrico}} \right) = 128,66 \text{ mg ácido cítrico}$$

$$100,0 \text{ g muestra} \left(\frac{128,66 \text{ mg ácido cítrico}}{0,9213 \text{ g de muestra}} \right) \left(\frac{1,0 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) = 13,96 \text{ g ácido cítrico / 100,0 g de muestra}$$

$$13,96 \quad \% \approx 14,0\%$$

Muestra 3

$$3,68 \text{ mL SV NaOH} \left(\frac{0,1057 \text{ mEq NaOH}}{1,0 \text{ mL SV NaOH}} \right) \left(\frac{1 \text{ mEq ácido cítrico}}{1 \text{ mEq NaOH}} \right) \left(\frac{50,0 \text{ mL extracto}}{10,0 \text{ mL extracto}} \right) \left(\frac{192,2 \text{ mg ácido cítrico}}{3 \text{ mEq ácido cítrico}} \right) = 124,6 \text{ mg ácido cítrico}$$

$$100,0 \text{ g muestra} \left(\frac{124,66 \text{ mg ácido cítrico}}{0,8610 \text{ g de muestra}} \right) \left(\frac{1,0 \text{ g}}{1000 \text{ mg}} \right) = 14,47 \text{ g ácido cítrico / 100,0 g de muestra}$$

$$14,47 \quad \% \approx 14,5\%$$

GLOSARIO

Apoptosis : Es un proceso fisiológico, controlado genéticamente que se da en todo tipo de células de organismos multicelulares y por tanto en todos los órganos y sistemas, mediante el cual las células dañadas o no deseadas activan mecanismos que conducen a su propia destrucción; de ahí el nombre alternativo de “suicidio celular”.

Calículo : Apéndices de los sépalos ubicados externamente al cáliz.

Cáliz:: Conjunto de sépalos.

Equinulado: Espinoso, con la superficie cubierta por espinas puntiagudas de pequeño tamaño.

Maclas: Asociaciones regulares de minerales de la misma especie.

Multífido: Dividido en varias lacinias (Segmento profundo y estrecho de cualquier órgano laminar) o lóbulos.

Pecíolo: Pedúnculo que une la lámina de la hoja con el tallo.

Propágulos: Unidades de dispersión de las plantas tales como esporas, semillas, yemas y esquejes a partir de la cual puede desarrollarse o regenerarse un nuevo individuo.

Sépalos: Hojas modificadas que conforman el cáliz.

Tricoma: Excrecencia epidérmica con forma de pelo.