

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONIA PERUANA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**



TESIS

**EVALUACIÓN DE METALES EN CORTEZA DE *Maytenus macrocarpa*
(CHUCHUHUASI) DE USO ETNOMEDICINAL EN LA REGIÓN
LORETO.**

**Para optar el título:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

Bach. RAÚL EMILIO APACLLA PÉREZ

Bach. ALIS FABIOLA PEZO LLOJA

Asesores

Q.F. FRIDA ENRIQUETA SOSA AMAY, Mgr.

Q.F. LUIS ALBERTO VILCHEZ ALCALÁ, Mgr.

IQUITOS- PERU

2015

**“Evaluación de Metales en Corteza de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi)
de Uso Etnomedicinal en la Región Loreto.”**

Bach. Raúl Emilio Apacla Pérez

Bach. Alis Fabiola Pezo Lloja

RESUMEN

En la presente investigación se evaluó el contenido de metales (fierro, manganeso, cobre, zinc, magnesio, plomo cadmio y cromo) presentes en la raíz, corteza y hojas de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) de uso etnomedicinal en la Región Loreto. El estudio de tipo descriptivo, tuvo como población a los individuos de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) que crecen en ambos lados de la carretera Iquitos-Nauta desde el kilómetro 17 al kilómetro 50 y las muestras fueron los individuos recolectados de los transeptos usados por los materos, esto con el fin de no depredar el bosque. Se determinó la concentración del analito en el equipo de Absorción Atómica SpectrAAVarian AA 240, con Gas de arrastre: Aire/Acetileno, señal lámpara de cátodo hueco, la detección es diferente para cada elemento. Temperatura de ionización 3000°C, inyección aspiración directa, horno de incineración (Mufla). Las concentraciones de los metales pesados analizados fueron el cadmio 0,132 ppm que supera los límites máximos permisibles y el plomo 0,398 ppm. Las concentraciones encontradas de los oligoelementos analizados en corteza fueron fierro 38,150 ppm, manganeso 3,350 ppm, cobre 4,790 ppm, zinc 13,300 ppm y cromo 4,583 ppm.

Palabras claves: metales pesados, *Maytenus macrocarpa*, uso etnomedicinal.

**"Assessment of Metals in Bark *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) of
ethnomedicinal Use in Loreto region . "**

Bach. Raúl Emilio Apacla Pérez

Bach. Alis Fabiola Pezo Lloja

ABSTRACT

In the present investigation the content of metals (iron, manganese, copper, zinc, magnesium, lead, cadmium and chromium) present in the root, bark and leaves of *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) of ethnomedicinal use in the Loreto region were evaluated. The descriptive study had as population individuals *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) growing on both sides of the Iquitos -Nauta road from kilometer 17 to kilometer 50 and samples were collected from individuals transects used by materos , this in order not to plunder the forest. Analyte concentration was determined in the team SpectrAAVarian Atomic Absorption AA 240, with drag Gas Air / Acetylene, hollow cathode lamp signal; detection is different for each element. Ionization temperature 3000 ° C, direct injection Aspiration, incineration furnace (muffle). The concentrations of heavy metals were analyzed 0,132 ppm cadmium exceeding the maximum permissible limits and 0,398 ppm lead. The concentrations of trace elements were analyzed in cortex 38,150 ppm iron , manganese 3,350 ppm, 4,790 ppm copper , zinc and chromium 13,300 ppm 4,583 ppm.

Keywords: heavy metals, *Maytenus macrocarpa*, ethnomedicinal use.

DEDICATORIA

A DIOS, porque está conmigo en cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza, sabiduría y humildad para continuar. A mis padres LEYLA y RAUL por su amor, trabajo y sacrificios en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. Ha sido un privilegio ser su hijo. Los amo con mi vida.

Raul Emilio Apacla Perez

Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.

MIS PADRES MARIA Y RAFAEL.

Alis Fabiola Pezo LLoja

AGRADECIMIENTO

En el presente Proyecto de Tesis nos gustaría agradecerle a ti Dios por bendecirnos para llegar hasta donde hemos llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la Universidad Nacional de La Amazonia Peruana y a la Facultad de Farmacia y Bioquímica por darnos la oportunidad de estudiar y ser un profesional Químico Farmacéutico.

A nuestros Asesores de Tesis, Q.F. Frida Enriqueta Sosa Amay y Q.F. Luis A. Vílchez Alcalá por su esfuerzo y dedicación, quienes con sus conocimientos, su experiencia, su paciencia y su motivación ha logrado en nosotros que podamos terminar nuestro proyecto con éxito.

También, a mis profesores que durante toda nuestra carrera profesional han aportado con un granito de arena a mi formación, y en especial a nuestros profesores el Dr. Charles Ocampo, Ing. Gladys Cárdenas de Reátegui por sus consejos, su enseñanza y más que todo por su amistad. De igual manera agradecer a nuestros Jurados de Tesis por la visión crítica de muchos aspectos científicos, por su rectitud en su profesión como docentes, por sus consejos que ayudan a formarnos como persona e investigadores

*Son muchas las personas que han formado parte de nuestra vida profesional a las que nos encantaría agradecerles su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles. Algunas están aquí con nosotros y otras en nuestros recuerdos y en nuestros corazones, sin importar en dónde estén queremos darles las gracias por formar parte de momentos importantes, por todo lo que nos han brindado y por todas sus bendiciones. **Para ellos: Muchas gracias y que Dios los bendiga.***

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | Pág. |
|---|------|
| Introducción..... | 7 |
| Objetivos..... | 11 |
| General..... | 11 |
| Específicos..... | 11 |
| CAPÍTULO I | 12 |
| 1.1. Marco teórico..... | 12 |
| 1.1.1. Antecedentes..... | 12 |
| 1.1.2. Marco conceptual..... | 13 |
| 1.1.2.1. Clasificación Taxonómica del <i>Maytenus macrocarpa</i> | 13 |
| 1.1.2.2. Plantas medicinales..... | 16 |
| 1.1.2.3. Control de calidad..... | 17 |
| 1.1.2.4. Elementos químicos en los seres vivos..... | 21 |
| 1.1.2.5. Análisis de elementos químicos en recursos terapéuticos. | 23 |
| 1.1.2.6. Absorción atómica..... | 24 |
| 1.2. Operacionalización de Variables..... | 26 |
| 1.3. Hipótesis..... | 27 |
| CAPÍTULO II | 28 |
| 2.1. Metodología..... | 28 |
| 2.1.1. Tipo de estudio..... | 28 |
| 2.1.2. Diseño de la investigación..... | 28 |
| 2.2. Población y muestra..... | 28 |
| 2.2.1. Ubicación del área de estudio | 28 |
| 2.2.2. Población y muestra en estudio..... | 28 |
| 2.2.3. Muestreo..... | 28 |
| 2.3. Equipos y materiales..... | 29 |
| 2.4. Procedimiento de recolección de datos | 30 |
| 2.4.1. Colecta georeferenciada de <i>Maytenus macrocarpa</i> | 30 |
| 2.4.2. Determinación de contaminantes metálicos..... | 30 |
| 2.4.3. Preparación de materiales e instrumentos a utilizar..... | 31 |
| 2.4.4. Preparación de soluciones madre patrones..... | 31 |
| 2.4.5. Preparación de Muestras..... | 32 |
| 2.4.6. Calibración del aparato y medida de las muestras..... | 34 |
| 2.5. Plan de análisis e interpretación..... | 34 |
| 2.6. Consideraciones de bioética..... | 35 |

| | |
|---------------------------------|----|
| CAPÍTULO III | 36 |
| 3.1. Resultados | 36 |
| Discusión..... | 40 |
| Conclusiones..... | 42 |
| Recomendaciones..... | 43 |
| Referencias Bibliográficas..... | 44 |
| Anexos..... | 49 |

INDICE DE TABLAS

| | Pág. |
|--|-------------|
| FIGURA 1. Curva estándar de fierro | 36 |
| FIGURA 2. Curva estándar de magnesio..... | 36 |
| FIGURA 3. Curva estándar de manganeso..... | 36 |
| FIGURA 4. Curva estándar de cobre..... | 36 |
| FIGURA 5. Curva estándar de zinc..... | 36 |
| FIGURA 6. Curva estándar de cromo..... | 36 |
| FIGURA 7. Curva estándar de cadmio..... | 37 |
| FIGURA 8. Curva estándar de plomo..... | 37 |
| TABLA 1. Concentración en ppm (ug/g) de fierro, magnesio, manganeso, cobre, zinc, cromo, cadmio y plomo en la raíz, corteza y hojas de la especie <i>Maytenus macrocarpa</i> (chuchuhuasi)..... | 37 |
| TABLA 02. ANOVA de un factor para los elementos químicos analizados en la especie <i>Maytenus macrocarpa</i> (chuchuhuasi)..... | 38 |

INTRODUCCIÓN

Desde tiempos inmemorables distintos pueblos han utilizado las plantas para curar o apalear sus males. Actualmente forman parte de la medicina alternativa o complementaria a la medicina occidental. Aproximadamente el 80 % de los habitantes de los países en desarrollo, unos 3,000 millones de personas, tienen a las plantas como su principal fuente de medicamentos caseros.

Ello ha motivado la preocupación e interés, desde fines de la pasada década del 70, de organismos internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Panamericana de la Salud (OPS). Consecuentemente, países como: China, India, Tailandia y Cuba han conseguido avances significativos y otros como México, Guatemala, Nicaragua y Brasil tienen experiencias interesantes en la validación de las especies naturales de uso en salud. Es ésta una de las razones por las que la OMS promueve cada vez con más intensidad el estudio de las plantas utilizadas en la Medicina Tradicional Herbolaria¹.

La recopilación de información sobre plantas medicinales en culturas nativas latinoamericanas se remonta al período Hispánico Colonial. Ya en 1570 una Cédula Real firmada por Felipe II hace explícito el interés del estado en las plantas medicinales indicando que todas las hierbas, árboles, plantas, o semillas con cualquier valor medicinal que se pueda encontrar en aquellos lugares sean enviados al Reino. En las etnias, al proceso de curación con plantas se añaden elementos simbólicos, emocionales y mágico-religiosos, sin embargo la intervención del hombre de ciencia ha puesto en evidencia la presencia de sustancias químicas, denominados metabolitos secundarios, a los cuales se les atribuye la actividad curativa de la especie².

En lo que al Perú concierne, se ha reportado la existencia de aproximadamente 1100 especies de plantas medicinales y sólo en el norte peruano, más de 500 especies diferentes¹. Las razones para el uso de plantas medicinales son diversas, las personas aducen que son accesibles, por ser de origen natural hay menos efectos adversos, se

han usado por tradición y han demostrado efectividad aún en casos donde la medicina occidental ha fracasado.

Sin embargo los órganos del vegetal, las formas de uso, tratamientos y aplicaciones no han sido estandarizados. Además los metabolitos secundarios pueden variar dependiendo de la calidad de los suelos, el tiempo de cosecha y el desarrollo del vegetal¹.

La etnomedicina Amazónica ha aportado históricamente con especies vegetales medicinales, tal es el caso de la quinina empleada para combatir la malaria, tradicionalmente antes de la llegada de los europeos, los pueblos indígenas encontraron en los recursos naturales lo necesario para satisfacer sus necesidades inmediatas de vivienda, alimentación y salud. Los conocimientos adquiridos de forma empírica permitieron obtener curaciones improbables para la medicina científica, por lo que hasta la fecha se mantiene vigente el uso de los medicamentos herbolarios, los mismos que se expenden en los mercados herbolarios de manera informal como recursos vegetales o como preparados artesanales³.

Por otro lado, los bosques tropicales contienen una gran variedad de especies de flora y fauna, las cuales vienen siendo consumidas en forma creciente, porque su demanda local ha trascendido fronteras. Este hecho amenaza la supervivencia de especies silvestres con alto índice extractivo que juegan un papel importante en la vida diaria de las comunidades nativas. Una de esas especies botánicas es *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi), muy requerida para los preparados hidroalcohólicos o acuosos por sus bondades energizantes, vigorizantes y sobre todo como desinflamante y analgésico en las enfermedades reumáticas y resfríos. Sin embargo los estudios de calidad de la mencionada especie son insuficientes, se desconoce cómo se comporta en cuanto a la asimilación de metales. Se sabe que la determinación de contaminantes metálicos es obligatorio en el protocolo analítico para toda materia prima vegetal bioactiva exigido por la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas.

En América Latina se estima que menos del 1%, de las más de 90 mil especies de plantas de los bosques han sido investigadas químicamente; solo aproximadamente el 6% tiene estudios preliminares de actividad biológica y el 15% tienen evaluaciones fitoquímicas. Además se han identificado 122 compuestos químicos a partir de 94 especies vegetales usadas como medicamentos⁴.

La Amazonia peruana, es una de las regiones más ricas en diversidad biológica y de los ecosistemas que la albergan, por lo tanto es también una fuente de recursos genéticos. La flora representada principalmente por angiospermas y gimnospermas con aproximadamente 6237 especies, distribuidas en 1406 géneros y 182 familias. En conjunto representan el 36,3% de la flora fanerógama del Perú; con estudios científicos incipientes; más aún si consideramos que, las variaciones de la composición química dependen de la diversidad de pisos ecológicos, de la estación de colecta del vegetal y del estado de desarrollo del vegetal⁵.

Los consumidores lugareños de recursos y productos naturales terapéuticos tradicionales se estiman en 80% de la población (891,732 habitantes de la región Loreto). Por otro lado los turistas que en promedio arribaron entre el 2007 y 2008 al aeropuerto fueron: nacionales (56 727 individuos) y extranjero (37 621 individuos) (TNE) acuden a los centros herbolarios como parte de su periplo turístico y adquieren en su gran mayoría dentro de sus bienes más preciados, bebidas alcohólicas reconstituyentes y afrodisiacas por lo que se estima que esta investigación será de gran importancia social y económica por que permitirá que los conocimientos que se deriven de la misma sean mejores en los grupos sociales de expendedores y abastecedores de estos recursos naturales terapéuticos tradicionales (RPNTT).

Es necesario generar nuevos conocimientos para validar el uso de plantas medicinales y transferirlos a la sociedad porque su uso es empírico y los pocos estudios sobre chuchuhuasi son insuficientes.

Las plantas medicinales de la Amazonia Baja por lo general son silvestres, por lo que la presencia de plaguicidas e insecticidas es probablemente muy baja.

En cuanto al contenido metálico de las especies vegetales, especialmente aquellas que proceden de suelos ácidos con un alto contenido de arcilla y limo presentan valores elevados de superficie específica, capacidad de cambio catiónico y retención de metales traza; esto, sumado a los altos porcentajes de materia orgánica, producto de la exuberante vegetación; aumentan la movilización de algunos metales y la absorción de las fracciones móviles de los metales pesados a través de la superficie de las hojas y de las raíces de las plantas; en las cuales se pueden encontrar concentraciones por encima del nivel de toxicidad.

Los metales pesados (59 elementos químicos que tienen un peso atómico mayor que del hierro 55,85 g/mol) son tóxicos para la vida. De igual manera es importante conocer el contenido de elementos que si bien cumplen un rol en los seres vivos, estos en altas concentraciones pueden resultar tóxicos. La valoración es indispensable por que las cortezas son insumos de las bebidas hidroalcoholicas de uso medicinal ancestral en la Región de la selva. Más aún si se considera que puede haber una variación natural de acuerdo a los suelos donde se desarrollan los individuos de la especie ⁶. Por lo que en la presente investigación se determino el contenido metálico en la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi)

OBJETIVOS

Objetivo General

- Evaluar el contenido de metales (hierro, manganeso, cobre, zinc, magnesio, plomo cadmio y cromo) presentes en la corteza de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) de uso etnomedicinal en la Región Loreto.

Objetivos específicos

- Identificar la especie de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) recolectada y georeferenciada de la zona de intervención del estudio.
- Determinar el contenido de metales pesados: cadmio y plomo en corteza de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi).
- Determinar el contenido de oligoelementos: magnesio, hierro, cromo, cobre, manganeso y zinc en corteza de *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi).

CAPÍTULO I

1.1. MARCO TEÓRICO

1.1.2. Antecedentes

Pérez, M. *et al.* (2008), estudiaron hojas de la *Boldoa purpurascens*, determinaron los índices numéricos de cenizas totales, cenizas insolubles en HCl, agua y la humedad residual. Los valores elevados de cenizas obtenidos demuestran el elevado porcentaje de componentes inorgánicos presentes en la planta. Dichos autores efectuaron la caracterización físico-química del extracto acuoso al 10% y determinaron los valores de pH, densidad relativa, análisis capilar, índice de refracción y sólidos totales. Identificaron además la presencia de metales como: potasio, plomo, cadmio, hierro, cobre, cromo, magnesio y calcio. Encontraron gran cantidad de potasio (0,9%), sodio, magnesio y calcio, demostrándose de esta forma el elevado contenido de sales iónicas presentes en la planta⁷.

Álvarez A. *et al.* (2008), investigaron la presencia de mercurio y plomo en productos naturales con fines terapéuticos distribuidos en Venezuela. Las muestras fueron analizadas, después de la digestión con ácido nítrico en horno microondas, por espectroscopia de absorción atómica, encontrándose valores que no sobrepasan los 0,2 mg de mercurio y de 10 mg de plomo por kilogramo de peso en seco de la hierba respectivamente; por lo tanto, los valores encontrados son inferiores a los niveles máximos permitidos en hierbas⁸.

Vidaurre, M. *et al.* (2007), realizaron un estudio farmacognóstico de las hojas de *Capparis avicennifolia*. Inicialmente determinaron las características macromorfológicas, los parámetros físico-químicos del control de calidad de la droga cruda tales como: porcentaje de humedad residual, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido, cenizas solubles en agua, sustancias solubles en etanol 70°; materia extraña, materia inorgánica extraña. Los valores promedio obtenidos en dicho trabajo se encontraron dentro del rango permisible, de acuerdo las Normas Ramales para Drogas Crudas del Ministerio de Salud Pública⁹.

1.1.2. Marco conceptual

1.1.2.1. Clasificación Taxonómica del *Maytenus macrocarpa* (R. & P.) Briq.

| | |
|--------------------------|---|
| Reino | Plantae |
| División | Magnoliophyta |
| Clase | Magnoliopsida |
| Orden | Celastrales |
| Familia | Celastraceae |
| Género | <i>Maytenus</i> |
| Especie | <i>Maytenus macrocarpa</i> (R. & P.) Briq |
| Nombre Científico | <i>Maytenus macrocarpa</i> (R. & P.) Briq |
| Nombre Común | Chuchuasi, chuchuhasha, chuchuhuasi |

- a) **Descripción botánica:** Árboles hasta 30m, glabros, frecuentemente con raíces sud-tabulares; ramitas generalmente comprimidas. Hojas elípticas a ovado-elípticas, 7 a 15 x 2.5 a 5.5 cm, ápice atenuado a agudo u obtuso, base obtusa, margen entero, envés no glauco. Flores en fascículos, pedicelos 3 a 5 mm de largo; botones globosos con los sépalos ligeramente adpresos a cernuos; sépalos 0.5-1 mm de largo, ciliados; pétalos obovados, ca. 1 mm de largo; disco 1-1.25 mm de diámetro; estilo alargado con estigma 2-lobulado. Frutos obovoides, 10-14 x 6-8 mm, ápice redondeado ¹⁰.
- b) **Compuestos presentes:** El género *Maytenus* presenta alcaloides espermidínicos y sesquiterpénicos, auronas, chalconas, cumarinas, ácidos fijos y débiles, catequinas, fenoles simples, quinonas, saponinas y triterpenos ¹¹.
- c) **Distribución geográfica:** En el Perú, se encuentra en los departamentos de Loreto (Tamshiyacu, Panguana 1° y 2° zona e Indiana – río Amazonas; Tahuayo – río Tahuayo; Ushpacaño – río Itaya; Momón y Padre cocha – río Nanay; Llachapa – río Napo carretera Iquitos-Nauta Km 15.5 y 45; Corazón de Jesús – Río Mazan), Huánuco, Madre de Dios, San Martín, Pasco y Ucayali (Contamana) y también en el Ecuador ^{3, 12}.

d) Datos ambientales:

Clima: Tropical, con abundante intensidad solar, temperatura entre 22 y 27°C, precipitación pluvial entre 1000 a 3400 mm anuales.

Suelo: Crece en suelos arenosos y arcillosos, pero con buen contenido de materia orgánica.

Biotopo de poblaciones naturales: Su hábitat se ubica en áreas no inundables (suelos de altura), inundables anualmente o solo en crecientes de alta alejada o cerca de los cuerpos de agua, purmas y bosques primarios, con intensidad lumínica de intermedia a sombreada. Es resistente a la inundación. Comparte su hábitat con las siguientes especies: castaña; umarí; bijao; cara huasca; caña brava; amasisa; lupuna; papaya; caña de azúcar; huitó; pájaro bobo; gramalote; uvilla; charichuelo; malva; guayabo; ubos; aguaje; pijuayo; pandisho; ojé; capinuri; ayahuasca; yarina; zancudo caspi^{13,14}.

e) Cultivos:

Época de siembra: De preferencia en la época de mayor precipitación pluvial, para asegurar su prendimiento en campo definitivo.

Espaciamiento: Se recomienda de 7m x 7m o 10m x 10m.

Labores de cultivo: No requiere de mayor cuidado.

Enemigos naturales: No se han observados.

Propuestas de asociación de cultivos: En suelos de tierra firme, puede compartir el extracto superior con algunas especies como las castañas, el cedro, el tornillo o el águano. En un sistema inundable en las restingas medias y altas, puede crecer con especies que soportan el sombreado y la inundación, como: uvos, huitó, shimbillo y pandisho.

Propagación: Mediante semillas, así como por estacas de raíz y tallo¹⁵.

f) Recolección y conservación del producto (usos y posología)

Recolección: Se realiza manualmente mediante la extracción de la corteza o de la raíz teniendo especial cuidado de no excederse para no comprometer la fisiología de la planta.

Conservación: Los lugareños extraen la corteza del lado opuesto al que sale el sol, y lo desecan al sol por 2 días ¹⁵.

La raíz es usada en:

Reumatismo en maceración alcohólica: poner 250 g de raíces secas, especialmente las que salen fuera de la tierra, desmenuzadas, luego de eliminar la parte superficial. Colocar en una botella con aguardiente. Tomar todas las mañanas en ayunas. Este preparado puede también mezclarse, con miel de abeja, en partes iguales. Se toma una copita en las mañanas y en las noches durante un mes.

La corteza es utilizada en:

Reumatismo: La corteza en cocimiento se torna una copita en ayunas.

Resfríos y bronquitis: Se raspan 200g de corteza y se hierven en dos litros de agua durante una hora. Se cuela el líquido resultante y se coloca en una botella agregando un cuarto de litro de aguardiente. Se deja macerar durante 10 días. Tomar una cucharada en las mañanas por 15 días.

Antidiarréico: La corteza se hierve con un poco de agua. Tomar una cucharada cada tres horas.

Hemorroides: Con el cocimiento de la corteza se hacen baños de asiento.

Afecciones de las mamas: Una taza de corteza, rallada o en trozos, se cocina en tres tazas de agua. El líquido se aplica en los pezones agrietados ³.

1.1.2.2. Plantas medicinales

La Organización Mundial de la Salud ha recomendado introducir recursos medicinales tradicionales, sobre bases de “seguridad, eficacia y calidad”, en los sistemas de salud, por lo que se requiere desarrollar investigaciones aplicadas que permitan disponer del respaldo científico necesario para su uso como recursos terapéuticos. Se estima que menos del 1 %, de las más de 90 mil especies vegetales de los bosques de América Latina, han sido investigadas químicamente, y que entre 215 y 500 mil del número total de especies de plantas superiores lignificadas en todo el mundo; aproximadamente solo el 6 % han sido estudiadas preliminarmente para conocer sus actividades biológicas y el 15 % con evaluaciones fitoquímicas ⁵.

En el Perú, no se cuenta con un registro de plantas y medicamentos de medicina tradicional. Generalmente los medicamentos o remedios de medicina tradicional se venden en mercados y tiendas especializadas. No existe control en la venta y recolección. No existen remedios de la medicina tradicional en la lista esencial de medicamentos de las instituciones oficiales de salud ¹⁶. En el país se conocen cerca de 1400 plantas medicinales utilizadas por el hombre rural, de las cuales 1000 son amazónicas. Al menos el 80% de la población amazónica depende del uso de esas plantas para tratar sus problemas de salud.

La demanda de estas especies como recursos o productos terapéuticos tradicionales por loreanos y turistas va en aumento; sólo en la ciudad de Iquitos se usan 105 especies de plantas medicinales y un sector entero del mercado más grande de la ciudad está dedicado a su venta; por sus propiedades curativas, energizantes y afrodisiacas ¹⁷. Otros países amazónicos y del Asia han logrado colocar sus productos en países de la Unión Europea, Japón y Estados Unidos.

Los medicamentos herbolarios deben pasar análisis de control de calidad para demostrar calidad, seguridad y eficacia. La actividad se comprueba, mediante experimentos farmacológicos y la de eficacia mediante estudios clínicos ¹⁸.

Un fitofármaco cuando contiene, como principio activo, un solo extracto vegetal se conoce como monopreparado. Si contiene dos o más extractos con principios activos se conocen como preparado de combinación. Los medicamentos basados en principios activos vegetales aislados únicos no se consideran como fitofármacos en sentido estricto, porque no tienen los principios secundarios naturales de un extracto. La unidad de los principios activos, secundarios y excipientes importantes para la eficacia que caracteriza un fitofármaco no se encuentra en estos medicamentos ¹⁸.

A nivel de todo el territorio peruano, en la zona rural está muy difundido el uso de plantas para combatir las enfermedades. La globalización ha permitido la difusión de las bondades terapéuticas de muchas de estas especies y sobre todo aquellas que proceden de la Amazonía. Sin embargo las exigencias de calidad, producción y tecnología se imponen ante la demanda creciente, que requiere de someter a rigurosos análisis a la materia prima vegetal bioactiva, y todo el proceso hasta el producto terminado, para que cumpla con los patrones de calidad que exigen las farmacopeas. Por otro lado la Organización Mundial de la Salud recomienda la conservación de la flora y la aplicación eficaz y sostenible de las plantas medicinales terapéuticas ¹⁹.

Según la normativa nacional, es necesario y urgente hacer que se cumpla la regulación de la producción, procesamiento, uso y la comercialización de plantas medicinales y de sus productos derivados ¹⁸.

1.1.2.3. Control de calidad

La Autoridad de Salud mediante sus organismos de control de calidad comprobará en forma permanente que las plantas medicinales desde su extracción ecológica, como de sus cultivos hasta su comercialización se encuentran debidamente analizadas y evaluadas terapéuticamente antes de ser comercializadas en el mercado. Todas las

plantas medicinales, de producción nacional o extranjera no podrán ser comercializadas sin el correspondiente registro y autorización sanitaria, otorgado por la Autoridad de Salud, el cual será renovado obligatoriamente cada cinco años.

En el Decreto Supremo N° 016, Reglamento para el registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos y afines, en su décimo título que trata de las medidas de seguridad, infracciones y sanciones, disposiciones complementarias, transitorias y finales así como el Reglamento para el registro, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos y afines. En el Capítulo III del Registro sanitario de los recursos terapéuticos naturales tradicionales y los requisitos para la obtención del registro sanitario ^{18, 20}.

La Comisión de Plantas Medicinales, tiene como principales funciones: Actualizar el catálogo nacional de plantas medicinales, reglamentar el uso de plantas medicinales, obligando a quienes las expenden a recabar el Registro Sanitario correspondiente, completar los catálogos de plantas medicinales existentes, incluyendo las regionales con miras a un catálogo nacional, recomendar se refuercen las medidas de control, vigilancia y otras, que impidan el uso indiscriminado de plantas como medicina, preparar listas ordenadas alfabéticamente de acuerdo al género, con indicación de la familia, los nombres vulgares conocidos en español, quechua, aymara y otros idiomas y dialectos, la realización del catálogo propiciará el desarrollo de la farmacopea nacional ²¹.

Los almacenes destinados para las plantas medicinales deberán cumplir con las normas de higiene y seguridad que establece el Reglamento. Por otro lado la autoridad de salud garantizará que los profesionales de la salud y de los consumidores tengan acceso a información actualizada y veraz sobre plantas medicinales.

Las plantas medicinales producidas en un determinado país, deben llevar una etiqueta o marbete con información completa sobre su clasificación botánica, indicaciones sobre su uso, dosis y precauciones, autorización sanitaria, número de

registro, razón social del productor, importador y demás datos que señale el Reglamento de la presente Ley.

a) Contenido de metales pesados

Diecisiete metales pesados son considerados muy tóxicos: plata, bismuto, cadmio, cobalto, cobre, mercurio, níquel, plomo, paladio, platino, antimonio, selenio, estaño, telurio, talio zinc y arsénico. Estos metales están presentes en suelos, que tienen alto contenido de arcilla y limo, que son característicos de la Amazonía Baja. Las partículas de arcilla, tienen valores elevados de superficie específica y capacidad de cambio catiónico, a esto se suma los altos porcentajes de materia orgánica producto de la exuberante vegetación tropical, aspectos importantes en la retención de metales trazas de gran movilidad como aluminio, cadmio, manganeso y hierro ²².

El cobre y el níquel tienen una movilidad media, en tanto que el cobalto y el plomo tienen una movilidad baja. Diez elementos son fácilmente movilizados por la actividad humana plata, arsénico, cadmio, cobre, mercurio, níquel, plomo, antimonio, estaño y talio, en proporciones que exceden en gran medida los procesos geológicos, de los cuales el cadmio, plomo, mercurio y arsénico son los cuatro tóxicos más importantes en los alimentos y productos fitoterapéuticos. ²³

En general, los metales a dosis tóxicas son una fuente potencial de estrés oxidativo; en el interior de los tejidos vegetales pueden generar especies reactivas de oxígeno.

En casos de deficiencia de fierro, para favorecer su absorción, la raíz puede liberar exudados orgánicos de bajo peso molecular (ácidos orgánicos, azúcares, fenoles, aminoácidos y gases como el etileno) a favor de gradiente de concentración y de compuestos de alto peso molecular por mecanismos de transporte activo o por autólisis de células epidérmicas y corticales que facilitan la disponibilidad de los metales. Los mucílagos que forman una capa externa a la raíz (mucigel), favoreciendo la complejación de metales pesados como el Cadmio, Cobre y Plomo.

De manera que, el plomo suele acumularse en el sistema radicular de las plantas y puede quedar retenido en la pared celular por la estructura de lignina y celulosa²⁴. Además, la biometilación por microorganismos moviliza e incorpora a las cadenas tróficas los metales pesados, que pasan a las plantas consumidas por animales y el hombre.²⁴

Los metales pesados producen efectos específicos que alteran las propiedades eléctricas y los cambios en la permeabilidad de la membrana plasmática. Los MP promueven daños mediante varios mecanismos: oxidación y entrecruzamiento de proteínas (conteniendo grupos tiol), inhibición de proteínas funcionales de membrana como la H⁺-ATPasa o cambios en composición y fluidez de los lípidos de membrana, en el caso del Cobre y el Cadmio; que alteran la composición de los lípidos de membrana y provocan la fuga de solutos de la célula. Las plantas tolerantes a los metales pesados reducen su captación o estimulan las bombas de flujo de metales que promueven la entrada del MP al citosol^{23, 25}

La tolerancia de las plantas a los metales se logra por compartimentalización vacuolar y/o una gran capacidad de secuestro del metal que se une a moléculas orgánicas (péptidos, ácidos orgánicos y aminoácidos) que poseen grupos ligando sulfhidrilo, radicales amino, fosfato, carboxilo e hidroxilo. Los ligandos que utiliza son básicamente aminoácidos (histidina y cisteína) y ácidos orgánicos (los ácidos cítrico y málico) y, más específicamente, dos clases de péptidos inducibles en plantas las fitoquelatinas (*PCs*).

Estas moléculas pueden estar aisladas o formando parte de las macromoléculas celulares, de manera que de esto dependen los efectos tóxicos de los Metales Pesados en los sistemas biológicos. Los Metales Pesados siguen siendo potencialmente tóxicos para los procesos metabólicos que se llevan a cabo en el citoplasma^{25, 26}

El contenido mineral compartimentalizado de los suelos de metales pesados disueltos o fijados, retenidos por adsorción, complejación y precipitación, son

absorbidos o adsorbido. Las plantas absorben los metales pesados disueltos en los suelos. En la Región Loreto, las temperaturas son altas y la humedad promedio es de 84%, por otro lado, la alta pluviosidad propicia procesos de lixiviación natural, que extraen de la corteza terrestre, toda clase de contaminantes metálicos que son arrastrados hacia los ríos.

A esto se suman los residuos industriales (minerales, aceites, detergentes), desechos sólidos (pilas latas, plásticos) productos agrícolas y vertimientos de aguas residuales urbanas con contenido de metales pesados arrastrados por las escorrentías. Algunos ríos de aguas oscuras por la extracción de oro, suelen contaminarse con mercurio y zinc metálico ²⁶.

Los metales pesados se acumulan en los lodos de las tahuampas y aguajales, favorecidos por la característica ácida de los suelos de la selva baja, que permiten la solubilidad de elementos, permitiendo la acumulación de altas concentraciones de metales pesados. De otro lado, la mineralización de la materia orgánica libera fósforo no disponible para el vegetal, y la textura arcillosa de los suelos permite la retención de agua y nutrientes para un buen desarrollo radicular, pero también permite un intercambio catiónico de la solución del suelo a los coloides (humus, arcilla).

El contenido mineral de la planta en los órganos reproductores y los de reserva es estable; mientras que los órganos vegetativos reflejan mejor las variaciones de nutrientes, siendo las hojas adultas las que mejor representan el estado nutricional o de toxicidad de la planta ²⁶.

1.1.2.4. Elementos químicos en los seres vivos

Se han aislado unos 60 oligoelementos en los seres vivos, pero solamente 14 de ellos pueden considerarse comunes para casi todos. Incluyen al Arsénico (As), Boro (B), Cobalto (Co), Cromo (Cr), Cobre (Cu), Molibdeno (Mo), Manganeseo (Mn), Níquel (Ni), Selenio (Se) y Zinc (Zn) ²⁷.

a) Oligoelementos o micronutrientes o elementos traza. Presentes en porcentajes inferiores al 0,12 %; por ejemplo en el ser humano aproximadamente representan el 8.6g del peso corporal.

Los oligoelementos no son los mismos en todos los seres vivos, estos elementos son necesarios en los tejidos humanos y animales en cantidades de mg/kg o mg/g de peso, o menos; pero se consideran tóxicos una vez pasado su umbral ²⁷.

b) Los elementos ultratraza se definieron en 1970 como aquellos elementos presentes en los tejidos en cantidades del orden de $\mu\text{g/g}$ o ng/g de peso o menos y con requerimientos dietéticos para el ser humano en el orden de $\mu\text{g/día}$.

c) Elementos sin función biológica conocida. Son altamente tóxicos, e incluyen al Bario, Cadmio, Mercurio, Plomo, Estaño, Bismuto. ^{27, 28}.

d) Elementos considerados en el análisis del proyecto

Magnesio: Participa como cosustrato del ATP y de otros reactantes nucleótidos. Es un antagonista del calcio. En los vegetales forma parte de la clorofila.

Hierro: Acepta y libera electrones para generar energía desempeñando un papel importante en procesos enzimáticos.

Cromo: Parece desempeñar un papel importante en el metabolismo de carbohidratos.

Cobre: Constituyente esencial de enzimas como ceruloplasmina, ácido δ -aminolevulínico deshidratasa, citocromo oxidasa, entre otras.

Manganeso: Constituyente de metaloenzimas (arginasa, superóxidodismutasa) y activador enzimático, es un metal necesario para el desarrollo de los arboles.

Zinc: Componente esencial de muchas proteínas implicadas en los diferentes aspectos del metabolismo como son alcohol deshidrogenasa, anhidrasa carbónica, carboxipeptidasas, RNA y DNA polimerasas, etc.²⁷.

Cadmio: es un metal raro en la naturaleza; se le encuentra como sales inorgánicas, las sales alquilo son relativamente inestables. Es un tóxico moderno, se usa principalmente en electro recubrimientos o galvanización, como pigmento de color para pinturas y plásticos y textiles y como cátodo en baterías de níquel-cadmio. Es fácilmente captado por los vegetales, pero lentamente eliminado²⁸

Plomo: El plomo es uno de los contaminantes que se encuentra más ampliamente distribuido en la naturaleza. Su elevada resistencia a la corrosión le ha hecho encontrar numerosas aplicaciones, entre las que destacan la fabricación de acumuladores eléctricos (baterías) y de soldaduras. El plomo absorbido se distribuye en distintos órganos y tejidos como riñón, hígado, encéfalo y huesos. Dada su similitud con el calcio, el mayor depósito de plomo se localiza en el tejido óseo.

No parece que el plomo ejerza un efecto beneficioso o deseable sobre la nutrición; así pues, su importancia nutricional radica exclusivamente en el hecho de que tiende a acumularse en el organismo y en que su absorción pueda aumentarse en los animales de laboratorio sometidos a una dieta pobre en calcio, hierro y proteínas. El plomo es uno de los elementos que se encuentra en cantidades variables en el esmalte de los dientes²⁹.

1.1.2.5. Análisis de elementos químicos en recursos terapéuticos

Los recursos terapéuticos que a su vez se constituyen en materia prima vegetal bioactiva requieren se determine su contenido de metales pesados entre otros contaminantes químicos.

En el caso deben estar libres de materia orgánica por digestión húmeda o por incineración seca a 550 °C, que permite obtener la ceniza o residuo inorgánico; se disuelve en ácido clorhídrico diluido. Esta solución se pulveriza en la llama de un

aparato de absorción atómica (AA) y se mide la absorción o emisión del metal objeto de análisis a una longitud de onda específica como se indica en la tabla 1. La concentración de la muestra se conoce relacionando los valores de absorbancia obtenidos con los valores de absorbancia provenientes de las preparaciones de referencia de concentración conocida. La relación entre absorbancia y concentración es lineal y sigue la Ley de Lambert y Beer³⁰.

En el protocolo de análisis se considera para el caso de recurso terapéutico natural tradicional de origen vegetal o animal. Nombre común o nombre químico en caso de tratarse de recurso terapéutico natural tradicional de origen mineral. Productos terapéuticos naturales tradicionales dice que se deberá consignar en la información que incluya aspectos etnobotánicos, taxonómicos, físico-químicos, toxicológicos y clínicos¹⁸:

- a) Clasificación del o los recursos naturales empleados, indicando nombre científico, género, especie, variedad, autor y descripción de las partes usadas de la planta o animal, indicando el nombre científico de o los recursos naturales.
- b) Cenizas totales.
- c) Humedad.
- d) Metales pesados y pesticidas.

El protocolo indicara resultados, límites de tolerancia (especificaciones), y técnicas analíticas. Estos análisis serán realizados de acuerdo a las Farmacopeas o a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud y/o técnicas analíticas validadas.

1.1.2.6. Absorción atómica

El protocolo de análisis del producto es un informe técnico emitido por el laboratorio de control de calidad ya sea del fabricante o por quien encargue su fabricación y/o por quien acondicione o libere el producto, suscrito por el analista y el profesional responsable del laboratorio de control de calidad, en el que se señala las pruebas realizadas al producto, los límites y los resultados obtenidos en dichas pruebas, con

arreglo a las exigencias contempladas en la última edición de la farmacopea, formulario, suplemento de referencia o metodología propia validada declarada por el interesado en su solicitud, el cual garantiza la calidad del producto ³⁰.

En cuanto a la técnica a emplear para la determinación de metales pesados en los extractos, es la Espectroscopía de Absorción Atómica, que es un método instrumental que está basado en la atomización del analito en matriz líquida y que utiliza comúnmente un nebulizador pre-quemador (o cámara de nebulización) para crear una niebla de la muestra y un quemador con forma de ranura que da una llama con una longitud de trayecto más larga. La niebla atómica es desolvatada y expuesta a una energía a una determinada longitud de onda emitida ya sea por una Lámpara de Cátodo hueco construida con el mismo analito a determinar o una Lámpara de Descarga de Electrones (EDL). Normalmente las curvas de calibración no cumplen la Ley de Beer-Lambert en su estricto rigor ³⁰.

La temperatura de la llama es lo bastante baja para que la llama de por sí no excite los átomos de la muestra de su estado fundamental. El nebulizador y la llama se usan para desolvatar y atomizar la muestra, pero la excitación de los átomos del analito es hecha por el uso de lámparas que brillan a través de la llama a diversas longitudes de onda para cada tipo de analito ³⁰.

En Absorción Atómica la cantidad de luz absorbida después de pasar a través de la llama determina la cantidad de analito existente en la muestra. Hoy día se utiliza frecuentemente una mufla de grafito (u horno de grafito) para calentar la muestra a fin de desolvatarla y atomizarla, aumentando la sensibilidad ^{30,31}.

El método del horno de grafito puede también analizar algunas muestras sólidas o semisólidas. Debido a su buena sensibilidad y selectividad, sigue siendo un método de análisis comúnmente usado para ciertos elementos traza en muestras acuosas (y otros líquidos). Otro método alternativo de atomización es el Generador de Hidruros ^{30,31}.

1.2. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| Variables de estudio | Definición conceptual | Definición operacional | Indicador | Índice |
|-----------------------------|---|--|--------------------------------|--------------------|
| - Especie vegetal | - La especie vegetal de uso etnobotánico en la Región Loreto | - La especie será muestreada en las zonas de investigación del estudio | - Características morfológicas | - Género y especie |
| - Metales pesados | - Elementos no requeridos en muy pequeña cantidad por los seres vivos | - Extracción de los elementos en medio ácido a partir de una muestra | - Ppm | - mg/L |
| | | | | - mg/L |

1.3. HIPÓTESIS

El contenido de metales pesados presentes en la corteza de la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi), recurso terapéutico de uso etnomedicinal en la Región Loreto es superior a los límites permisibles dados por la Organización Mundial de la Salud.

CAPÍTULO II

2.1. METODOLOGÍA

2.1.1. Tipo de diseño o estudio

El presente estudio es de enfoque cuantitativo de tipo descriptivo, sólo se buscó determinar la presencia o ausencia de los metales seleccionados para el estudio y la cantidad en que se encuentran presentes.

2.1.2. Diseño de investigación

Se ha considerado un diseño no experimental de corte transversal.

2.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

2.2.1. Ubicación del área de estudio

El presente trabajo de investigación interviene en las zonas rurales que comprendió 5 Km a ambos lados de la carretera Iquitos-Nauta desde el kilómetro 17 al kilómetro 50, excluyendo la Reserva Allpahuayo Mishana y el corredor Zungarococha-LLanchama.

2.2.2. Población y muestra en estudio

La población en estudio comprendió a la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi); comercializadas por su uso tradicional como recursos terapéuticos; las cuales, fueron seleccionadas del listado de plantas medicinales identificadas por García.¹⁷

2.2.3. Muestreo

Para seleccionar los puntos de muestreo se consideraron los transeptos de los extractores lugareños, para entrar al bosque sin depredar la zona intervenida, que fueron georeferenciados, identificada taxonómicamente y muestreados por conveniencia y para la determinación de los elementos trazas o metales pesados se empleara la parte útil del vegetal (corteza).

2.3. EQUIPOS Y MATERIALES

Material de laboratorio

-Cápsulas de porcelana (crisol), tubos, Fiolas, pipetas, matraces, embudos, desecadores de vidrio, pinzas de metal.

Drogas e insumos químicos

-Estándares de cada uno de los metales a analizar, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido clorhídrico, ácido ascórbico, peróxido de hidrógeno, deshidratante de perclorato de magnesio o sílica gel.

Equipos

-Sistema de Absorción Atómica SpectrAAVarian AA 240, con Gas de arrastre: Aire/Acetileno, señal Lámpara de cátodo hueco, la Detección es diferente para cada elemento. Temperatura de ionización 3000°C, inyección aspiración directa, horno de incineración (Mufla), balanza analítica con 1 mg de sensibilidad y campana extractora.

Materiales de Bioseguridad

-Guantes, mascarilla, gorros, mandil.

2.4. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

2.4.1. Colecta georeferenciada de *Maytenus macrocarpa*:

Se contactó a los extractores y comercializadores informales de plantas medicinales que operen en la zona de estudio. Luego, con la ayuda de un sistema de posicionamiento satelital (GPS) se procedió a determinar las coordenadas geográficas de los centros poblados y lugares de colecta de las muestras botánicas. Luego se diseñó la base de datos cartográficas y se elaboraron los mapas con puntos de muestreo utilizando para ello como herramienta al sistema de información Geográfica, a través del programa ArcView. También se utilizó imágenes de satélite landsat TM 5 y como base la carta Nacional de Iquitos.

La identificación taxonómica de la especie se hizo in situ y se colectó una muestra que fue identificada en el Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, con claves taxonómicas estándares en base a las características morfológicas de la especie.

2.4.2. Determinación de contaminantes metálicos.

Para determinación de cenizas se utilizó un horno mufla FURNACE 1300 y una balanza analítica OHAUS-GA200. Se empleó 2 g de droga triturada exactamente pesada, en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calibró suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizarse en una cocina y posteriormente se incineró en un horno mufla a una temperatura de 505° C durante 2h y media.

Se enfrió en una desecadora y se pesó, repitiéndose el proceso hasta que en dos pesadas sucesivas no defirió en más de 0.5mg. Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesado fueron de 30min. Al enfriar el residuo fue de color blanco o casi blanco.

A partir de las cenizas totales se procedió a determinar el contenido de elementos metálicos. Se trataron las cenizas con 5 a 10 ml de ácido clorhídrico 6 N y desecadas

cuidadosamente sobre placa caliente a temperatura moderada. Se añadió por dos veces 15 y 10ml de ácido clorhídrico 3 N y calentamiento del crisol sobre la placa caliente hasta ebullición, luego se enfriaron y recogieron los filtrados en un matraz, así como los lavados con agua del crisol (tres veces) y papel de filtro. Se añadió 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno por 100 ml de solución.

El filtrado se diluyó en fiola de 100mL con agua. Se preparó un blanco tomando las mismas cantidades de las soluciones, se pulverizaron en la llama de un aparato de absorción atómica y se midió la absorción o emisión del metal objeto de análisis a una longitud de onda específica.

2.4.3. Preparación de materiales e instrumentos a utilizar

Se lavaron los papeles de filtro antes del uso con ácido clorhídrico 3N para eliminar las trazas de metales.

Todo el material de vidrio fue lavado perfectamente con ácido nítrico grado RA al 30% antes del uso. El material de vidrio utilizado para análisis de metales traza, se mantuvo separado de otros materiales de vidrio de uso general.³⁰

Los instrumentos fueron calibrados y ajustados antes de su operación.

2.4.4. Preparación de soluciones madre patrones (concentración 1mg/L)

Las cantidades de las sales inorgánicas para análisis usadas como estándares, se pesaron y disolvieron en 25 ml de ácido clorhídrico 3N y luego se diluyeron a 250 mL con agua.

Las soluciones patrones se prepararon al diluir la solución madre patrón con ácido clorhídrico 0,3 N a las concentraciones que caigan dentro del margen de trabajo.^{22,30}

2.4.5. Preparación de muestras

A. Determinación de cenizas:

- Se colocó en el horno de mufla durante 1 hora el número de crisoles que se necesitaron.
- Se retiraron los crisoles, se enfriaron en desecador durante al menos 2 horas y una vez enfriados procedimos a pesar cada crisol hasta el mg más próximo.
- Pesamos con exactitud hasta el mg más próximo alrededor de 2 g de producto en cada crisol.
- Si la muestra era líquida la pre-deseamos sobre baño de vapor para evitar salpicadura durante la fase de carbonización.
- Colocamos los crisoles sobre una placa caliente en vitrina de gases y fuimos incrementando lentamente la temperatura hasta que cesó el desprendimiento de humo y las muestras aparecieron totalmente carbonizadas.
- Colocamos los crisoles en el interior del horno de mufla, lo más cerca posible del centro, e incineramos durante la noche a 505 °C.
- Se retiraron los crisoles de la mufla y se colocaron en un desecador durante al menos dos horas para que enfrien. (Se observó que las cenizas tuvieran un aspecto limpio y color blanco. Si se observó trazas de carbón, se enfriaron los crisoles, se le añadió dos mL de ácido nítrico y agitar con varilla de vidrio para dispersar la ceniza. Secaron sobre baño de vapor y seguidamente retornaron al horno de mufla durante 24 horas).
- Una vez enfriados a temperatura ambiente volver a pesar cada crisol con sus cenizas hasta el mg más próximo.

- Calculamos con diferencia el peso de las cenizas.

CALCULOS:

$$\% \text{ DE Ceniza} = \frac{(W2 - W1)}{W3} \times 100$$

W1 = Peso crisol

W2 = Peso crisol + ceniza

W3 = Peso muestra

B. Determinación de metales

Preparamos la muestra para determinación de: magnesio, fierro, cromo, cobre, manganeso, zinc, cadmio y plomo.

Una vez eliminada la materia orgánica por incineración seca, el residuo se disolvió en ácido clorhídrico diluido. La solución se pulverizó en la llama de un aparato de absorción atómica y se midió la absorción o emisión del metal objeto de análisis a una longitud de onda específica.

- Se trataron las cenizas con 5 – 10 ml de ácido clorhídrico 6 N hasta mojarlas totalmente y a continuación se desecaron cuidadosamente sobre placa caliente a temperatura moderada.
- Se añadió 15 ml de ácido clorhídrico 3 N y se calentó el crisol sobre la placa caliente hasta que la solución comenzó a hervir.
- Se enfrió y se filtró a través de papel de filtro hacia un matraz volumétrico reteniendo en el crisol la mayor cantidad posible de sólidos.
- Se añadió 10 ml de ácido clorhídrico 3 N al crisol y se calentó hasta que la solución comience a hervir.
- Se enfrió y se filtró hacia el matraz volumétrico.
- Se lavó el crisol al menos tres veces con agua y se filtraron los lavados hacia el matraz.

- Se lavó perfectamente el papel de filtro y se recogieron los lavados en el matraz.
- Se añadió 1 ml de solución de peróxido de hidrógeno por 100 ml de solución para determinar el cromo.
- Se enfrió y diluyó el contenido del matraz hasta la señal de enrase con agua.
- Se preparó un blanco tomando las mismas cantidades de los reactivos indicados en el preparado anterior.

2.4.6. Calibración del aparato y medida de las muestras

Una vez que las muestras estuvieron listas para la lectura, se procedió a la calibración del equipo, se colocaron las lámparas de cátodo hueco de los elementos a determinar y se fijó juntamente con el software del equipo. Luego se procedió a la alineación del quemador con la señal que emite la lámpara, seguidamente se leyó una concentración de un elemento para comparar la absorbancia que emite y poder determinar que el equipo trabajaba correctamente, una vez alineado el quemador y optimizada la lámpara, se creó el método y la secuencia de trabajo según los elementos a leer.

Para las lecturas de las muestras, se calibró el equipo con el blanco, que para el presente caso fue la solución de HCl 0,3N. Luego se leyeron las diferentes concentraciones para cada estándar y se determinó la curva de calibración del elemento a determinar (la curva es diferente para cada elemento). Seguidamente se leyeron las muestras; las lecturas de las absorbancias en nm, por intercepción en la curva patrón del elemento permitió determinar la concentración presente en cada muestra^{32,33}.

2.5. PLAN DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN

El diseño de análisis es de tres repeticiones por cada estándar y en cada muestra los datos se procesaron por la estadística descriptiva para determinar el promedio, desviación estándar y coeficiente de variabilidad para cada elemento analizado y por la estadística inferencial se realizó un análisis de varianza de un factor (ANOVA), asumiendo que las varianzas son diferentes con un nivel de significancia de $p < 0.05$. Este procedimiento se realizó en el programa estadístico SPSS v 21.0.

2.6. CONSIDERACIONES DE BIOÉTICA

- Las muestras colectadas corresponden a una especie vegetal, las mismas que fueron colectadas en pequeñas cantidades para no afectar la viabilidad de los individuos, ni el equilibrio ecológico, ni al medio ambiente. Por lo que, no representa una amenaza para la especie en estudio ni para el área del bosque intervenido.
- Los desechos generados en los análisis químicos, fueron previamente tratados y eliminados de acuerdo a la normativa de residuos químicos, para minimizar la contaminación del medio ambiente.
- Los materos que participaron en el estudio, para ayudar a identificar los individuos de la especie a muestrear recibieron un estipendio por su trabajo.

CAPÍTULO III

3.1 RESULTADOS

Los contenidos de los elementos en el vegetal se determinaron por comparación con las curvas patrón.

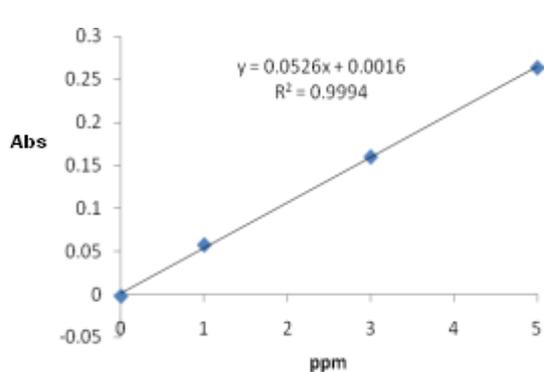


Figura 1. Curva estándar de hierro

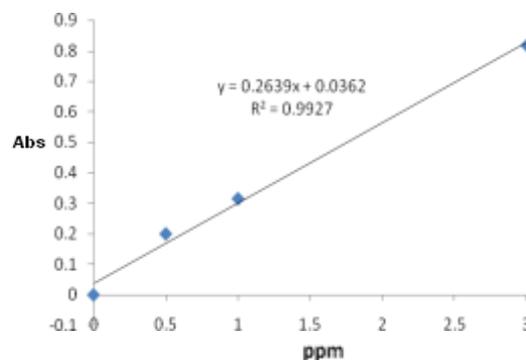


Figura 2. Curva estándar de magnesio

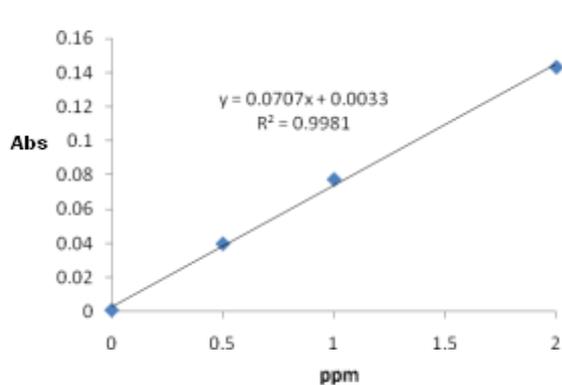


Figura 3. Curva estándar de manganeso

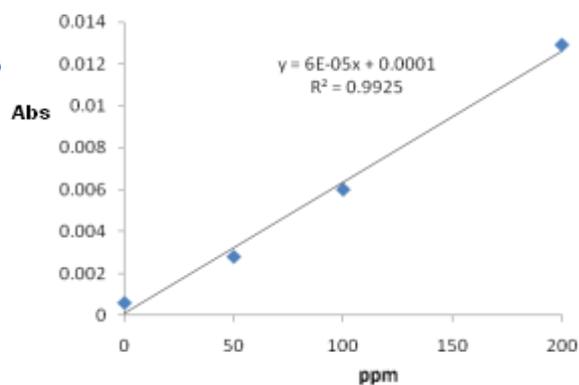


Figura 4. Curva estándar de cobre

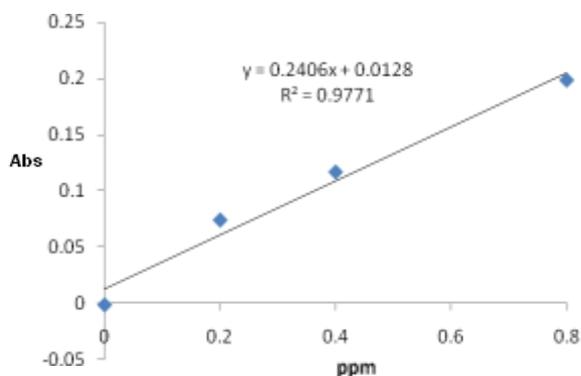


Figura 5. Curva estándar de zinc

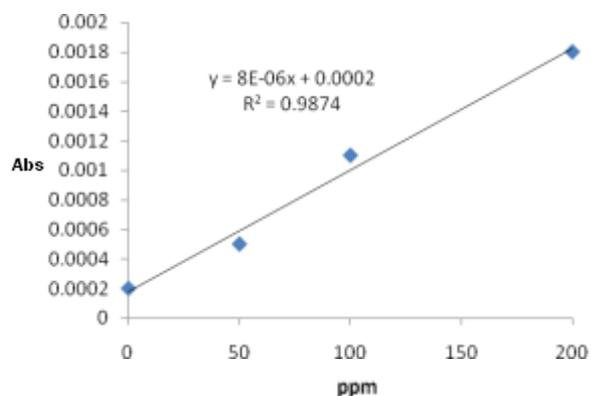


Figura 6. Curva estándar de cromo

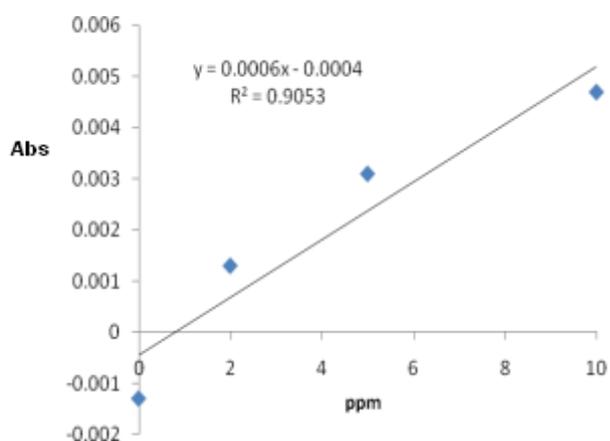


Figura 7. Curva estándar de cadmio

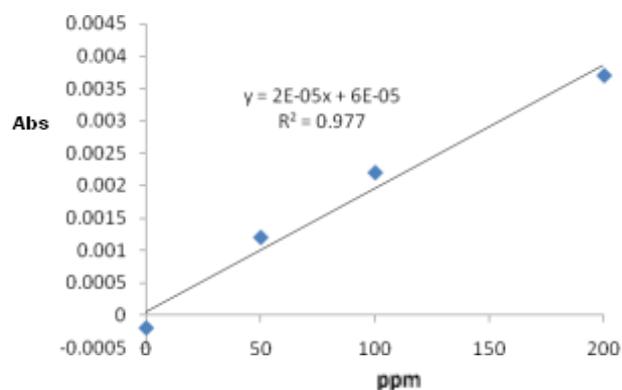


Figura 8. Curva estándar de plomo

Tabla 1. Concentración en ppm (ug/mg) de fierro, magnesio, manganeso, cobre, zinc, cromo, cadmio y plomo en la raíz, corteza y hojas de la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi)

| Órgano | Fierro | Magnesio | Manganeso | Cobre | Zinc | Cromo | Cadmio | Plomo |
|-----------------|---------|----------|-----------|-------|--------|--------|--------|-------|
| Raíz | 523,098 | 289,655 | 16,250 | 7,058 | 14,425 | 10,625 | 0,370 | 0,483 |
| | 524,457 | 289,106 | 15,900 | 7,143 | 14,075 | 11,250 | 0,337 | 0,490 |
| | 543,750 | 291,285 | 16,150 | 7,068 | 15,495 | 9,392 | 0,323 | 0,462 |
| Promedio | 530,435 | 290,015 | 16,100 | 7,090 | 14,665 | 10,422 | 0,344 | 0,478 |
| DS | 11,551 | 1,133 | 0,180 | 0,047 | 0,740 | 0,946 | 0,024 | 0,014 |
| C.V | 0,022 | 0,004 | 0,011 | 0,007 | 0,050 | 0,091 | 0,070 | 0,030 |
| Corteza | 38,400 | 195,260 | 3,650 | 4,847 | 13,150 | 5,000 | 0,134 | 0,402 |
| | 36,100 | 203,412 | 3,350 | 4,957 | 13,500 | 4,375 | 0,132 | 0,394 |
| | 39,950 | 202,838 | 3,050 | 4,564 | 13,250 | 4,375 | 0,130 | 0,399 |
| Promedio | 38,150 | 200,503 | 3,350 | 4,790 | 13,300 | 4,583 | 0,132 | 0,398 |
| DS | 1,937 | 4,550 | 0,300 | 0,203 | 0,180 | 0,361 | 0,002 | 0,004 |
| C.V | 0,051 | 0,023 | 0,090 | 0,042 | 0,014 | 0,079 | 0,013 | 0,010 |
| Hojas | 76,050 | 237,961 | 7,500 | 1,995 | 32,660 | 1,622 | 0,270 | 1,086 |
| | 86,800 | 229,474 | 7,200 | 1,795 | 33,090 | 1,672 | 0,262 | 1,236 |
| | 81,950 | 228,440 | 6,850 | 1,873 | 33,005 | 1,660 | 0,277 | 1,160 |
| Promedio | 81,600 | 231,958 | 7,183 | 1,888 | 32,918 | 1,651 | 0,270 | 1,160 |
| DS | 5,384 | 5,224 | 0,325 | 0,101 | 0,228 | 0,026 | 0,008 | 0,075 |
| C.V | 0,066 | 0,023 | 0,045 | 0,053 | 0,007 | 0,016 | 0,028 | 0,064 |

El coeficiente de variación del contenido de metales en la raíz, indica que los valores se dispersan en un 0,004% a 0,091%, en la corteza en un 0,010% a 0,090% y en las hojas en un 0,007% a 0,066% con respecto a su promedio (tabla 1).

Tabla 02. ANOVA de un factor para los elementos químicos analizados en la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi).

| | | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
|-----------|--------------|-------------------|----|------------------|----------|------|
| Fierro | Inter-grupos | 445685,281 | 2 | 222842,640 | 4023,311 | ,000 |
| | Intra-grupos | 332,327 | 6 | 55,388 | | |
| | Total | 446017,608 | 8 | | | |
| Magnesio | Inter-grupos | 12372,430 | 2 | 6186,215 | 376,615 | ,000 |
| | Intra-grupos | 98,555 | 6 | 16,426 | | |
| | Total | 12470,985 | 8 | | | |
| Manganeso | Inter-grupos | 256,764 | 2 | 128,382 | 1686,770 | ,000 |
| | Intra-grupos | ,457 | 6 | ,076 | | |
| | Total | 257,221 | 8 | | | |
| Cobre | Inter-grupos | 40,772 | 2 | 20,386 | 1144,724 | ,000 |
| | Intra-grupos | ,107 | 6 | ,018 | | |
| | Total | 40,879 | 8 | | | |
| Zinc | Inter-grupos | 714,905 | 2 | 357,452 | 999,719 | ,000 |
| | Intra-grupos | 2,145 | 6 | ,358 | | |
| | Total | 717,050 | 8 | | | |
| Cromo | Inter-grupos | 119,621 | 2 | 59,810 | 175,100 | ,000 |
| | Intra-grupos | 2,049 | 6 | ,342 | | |
| | Total | 121,670 | 8 | | | |
| Cadmio | Inter-grupos | ,069 | 2 | ,035 | 161,143 | ,000 |
| | Intra-grupos | ,001 | 6 | ,000 | | |
| | Total | ,070 | 8 | | | |
| Plomo | Inter-grupos | 1,053 | 2 | ,527 | 269,849 | ,000 |
| | Intra-grupos | ,012 | 6 | ,002 | | |
| | Total | 1,065 | 8 | | | |

Prueba de Hipótesis para análisis de varianza con el estadístico F donde:

H₀: Los promedios de cada elemento en los tres órganos de la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) en la especie en estudio son iguales.

H_a: Los promedios de cada elemento en los tres órganos de la especie *Maytenus macrocarpa* (chuchuhuasi) en los diferentes individuos de la especie en estudio no son iguales.

El análisis de varianza al 5% de significancia con 2 y 6 grados de libertad indica que el análisis es altamente significativo (tabla 2) por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la alternativa.

DISCUSION DE RESULTADOS

El promedio de las concentraciones de cada elemento se obtuvo por analizar tres repeticiones de cada muestra, que permitió en el caso de los metales pesados comparar dicho contenido con los límites máximos permisibles establecidos por la OMS para hierbas de uso medicinal, ya que no son constituyentes naturales de los seres vivos. Sin embargo las plantas pueden acumularlos en caso de desarrollar en suelos con contenidos metálicos altos.

Se conoce que los suelos de Amazonía Baja son ácidos y de tipo arcilloso y limo, que suelen contener alto contenido de metales considerados tóxicos como cadmio, plomo, cromo, sin embargo las concentraciones altas de metales considerados oligoelementos como el cromo, cobre y zinc también resultan perjudiciales para los seres vivos²².

Las concentraciones de cadmio en los diferentes órganos de la especie vegetal en estudio (raíz: 0,344, corteza: 0,132, hojas: 0,270) se encontraron por encima del límite máximo permisible (0,040 ug/mg). Este metal es raro en la naturaleza por lo que su presencia es de origen antropogénico, en la Amazonía el uso de linternas a pilas con contenido de cadmio²⁷.

Las concentraciones de plomo en los diferentes órganos de la especie vegetal en estudio (raíz: 0.478, corteza: 0.398, hojas: 1.160) se encontraron por debajo de los niveles máximo permisibles (10 ug/mg) (tabla 1). Se sabe que, el plomo suele

acumularse en el sistema radicular de las plantas y puede quedar retenido en la pared celular por la estructura de lignina y celulosa, sin embargo el contenido más alto en la planta en estudio esa en las hojas²⁴.

De los oligoelementos de presencia obligada en los seres vivos, se encontró que las raíces presentaron mayor concentración de Fe, Mg, Mn, Cu y Cr, que en las hojas, en las que la concentración de Zn fue más alta. En la corteza las concentraciones encontradas fueron más bajas que en la raíz y las hojas, para los metales de Fe, Mg, Mn y Cr; pero fueron intermedias en el Cu y Zn. (tabla 1). La concentración más pareja en los tres órganos vegetales analizado fue para el Mg.

Se conoce por teoría que en las partes leñosas (tallo) se acumula mucho menor cantidad de metales que la parte foliar, de manera que el contenido de los analitos debe ser menor en la corteza que en la parte foliar; los resultados obtenidos coinciden, excepto para el cobre y el cromo donde se invierte siendo menor su contenido en las hojas. (Tabla 1).

Por otro lado, se considera que los suelos amazónicos son ácidos y de contenido arcilloso, lo que favorece la acumulación de metales, pero favorece el desarrollo de las plantas. En el caso de la especie estudiada, si se dispusiera de datos sobre el contenido de elementos en el suelo se podría conocer si la especie crece en condiciones de estrés y posiblemente algunas de ellas puedan ser identificadas como especies fitorremediadoras.

CONCLUSIONES

1. El coeficiente de variación del contenido de metales analizadas, indica que los valores se dispersan desde en un rango: fierro de 0,022 a 0,066, magnesio de 0,004 a 0,023, manganeso de 0,011 a 0,090, cobre de 0,007 a 0,053, zinc de 0,007 a 0,050, cromo de 0,016 a 0,091, cadmio de 0,013 a 0,070, plomo de 0,010 a 0,064 respecto a su promedio.
2. La corteza de la especie botánica de uso etnomedicinal analizada, no califican como materia prima bioactiva para el preparado de productos naturales o fitofármacos por el contenido de cadmio en las muestras analizadas por encima de los límites máximos permitidos. Siendo el valor del cadmio: 0,132 ppm. Esta corteza por las características de depuración tan bajas del metal, representan un mayor riesgo de toxicidad para quienes la consumen de forma habitual.
3. El metal pesado que tuvo la dispersión mínima con diferencia de 0.019 fue el magnesio y el manganeso tiene la dispersión máxima con diferencia de 0.079.

RECOMENDACIONES

1. Es necesario completar con estudios comparativos de contenido de metales en suelos y hacer estudios de comparación en otros individuos; y determinar si la especie es fitorremediadora.
2. Es importante analizar el contenido de metales en los productos naturales preparados artesanalmente (extracto hidroalcohólico) y que se expenden en la ciudad de Iquitos, los mismos que no cuentan con control sanitario.
3. Realizar estudios complementarios de las características dasométricas tomadas a diferentes individuos, de la especie vegetal analizada servirá para verificar si la presencia de los metales pesados en concentraciones tóxicas, altera el desarrollo del árbol.
4. Este trabajo, puede servir de referencia al Ministerio de Salud, DIREMID Loreto en su rol normativo a fin de propiciar la formalización de los preparados naturales terapéuticos tradicionales, a fin de evitar el consumo de aquellos productos que se consideren peligrosos por su alto contenido metálico.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bocanegra L, Bocanegra F, Mostacero J. Effectiveness of herbal medicine and its impact on the quality of life of the settlers of Curgos, Peru. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en:
www.revistas.concytec.gob.pe/.../a04v3n1.pdf
2. Trillo C, Arias B. Colantonio S. Revisión de la etnomedicina en argentina: construcción de la disciplina y perspectivas para el futuro. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en: www.ibone.une.edu.ar/.../20.../405_417.pdf
3. Mass W, Campanera M. Árboles medicinales. Conocimiento y usos en la cuenca baja del Río Marañón zona de amortiguamiento de la Reserva Pacaya-Samiria. Programa de Cooperación Hispano Peruano; 2011.
4. Guerrero E, Moran J, Lopez J, Suarez O, mondolis E. Evaluación de la actividad vascular de diferentes productos obtenidos a partir de *Lourtegia stoechadifolia*, *Espeletia schultzii* y *Stevia lucida*. 2008[Visitada 05.12.2013]. Disponible en: www.sibiup.up.ac.pa/.../0107000720080/pdf
5. Carballo-Abreu L, Rodríguez-Guerra Y, Arteaga-Crespo Y, Cadme M, Toledo, S. Fitoquímica de especies forestales con uso medicinal en comunidades del parque nacional Viñales-Cuba VI Simposio Internacional Sobre Manejo Sostenible de Recursos Forestales.2010.
6. Monton-Bermea O. Contenido de metales pesados en suelos superficiales de la ciudad de Mexico. D. R. Tip Revista Especializada en Ciencias Químico Biológicas 2006; 9(1): 45-47.
7. Pérez M, Boffill M, Méndez R, Verdecía,B. Evaluación de la toxicidad aguda por el procedimiento de dosis fijas de un extracto de *Boldoa*

purpurascens Cav REDVET. Revista electrónica de Veterinaria 1695-7504
Marzo 2008.Volumen IX Número 3.

8. Álvarez A. *et al.* Productos naturales con fines terapéuticos comercializados en Venezuela Retel. Revista de Toxicología en Línea; 2008.
9. Vidaurre M, Querevalú L, De Los Ríos E, Ruiz S. Características farmacognósticas de las hojas de *Capparis avicennifolia* Rev. Med. Vallejana 2007.v.4 n.2.
10. Ayala F. Taxonomía Vegetal (*Gymnospermae* y *Angiospermae* de la Amazonia Peruana). Imp. Centro de Estudios Teológicos de la Amazonia (CETA) Iquitos-Perú. Primera Edición Vol. 2 pág. 71 y 73.[Visitada 05.12.2013]. Disponible en: www.books.google.com/.../Taxonomia_vegetal
11. Arce J. Investigación botánica de uso terapéutico en plantas medicinales. Editorial Bogotá. pp 400; 2006
12. Vásquez R. “Florura de las reservas biológicas de Iquitos-Perú”. Editores Agustin Rudas Lleras Y Charlotte M. by Missouri Botanical Garden.Printed in USA. 1997 Vol 63.Pág. 207. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en: www.amazon.com/...Reservas-Biológica
13. Gaviño G. Técnicas selectas de Laboratorio y de campo. Farmacopea Argentina. 7º Ed. Vol I; 2003
14. Miranda M. Farmacognosia y Productos Naturales. Ed Félix Varela. Ciudad de La Habana, Cuba. 2002. Págs. 13-14, 68 – 73, 135 – 141, 261-280.
15. Vega M. Etnobotánica de la Amazonía Peruana Ed. Abya Yala 2001 Pag. 74. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en: www.repositoy.umm.edu.bitstream.pdf

16. Organización Panamericana de la Salud “Sistemas de Salud Tradicional en América Latina y el Caribe: Información de base”, Washington D.C.1999.
17. García A, Tello R. Inversión y generación de empleo mediante la comercialización sostenible de plantas medicinales amazónicas en el centro herbolario Pasaje Paquito, Iquitos; Universidad Nacional de la Amazonia Peruana; 2003
18. Reglamento para el registro sanitario, control y vigilancia sanitaria de productos farmacéuticos y afines, Ministerio de Salud. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en:
www.digemid.minsa.gob.pe/daum/urm/evasitmedicamentos.pdf
19. Organización mundial de la salud (OMS). Estrategias de la OMS sobre medicina tradicional 2002-2005.
20. Pruebas de desempeño de productos. INTI. Pág. 2. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en:
http://www.inti.gob.ar/productos/pdf/mat_cont_microbiologico.pdf
21. El desarrollo de la legislación sobre plantas medicinales en la comunidad europea y su incorporación en el ordenamiento jurídico español su problemática. 2003. [Visitada 05.12.2013] .Disponible en:
www.cursoderechofarmaceutico.es/.../bloque3/bloque3_4447778878.pdf
22. Paredes S, Aguilar J, Navarro P. Determinación de metales pesados y sales solubles en suelos de cultivo acondicionados con lodos residuales. Rev. Conciencia tecnológica (versión impresa). México pp. 4-8; 2001.

23. Perez J, Martinez I, Paz D. Asimilación de cadmio y plomo por *Nicotiana tabacum* variedad “Criollo 98” cultivada en un suelo contaminado artificialmente. Parte II: Acumulación de metales pesados Centro Agrícola, Vol. 34, No 3: 45-51; 2007.
24. Marmioli M, Antonioli G, Maestri E, Marmioli N. Evidence of the involvement of plant ligno-cellulosic structure in the sequestration of Pb: an X-ray spectroscopy-based analysis. *Environ. Pollut.* 134: pag 217–227; 2005. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0269749104003471>
25. Saez J. Efecto de la quercetina y la rutina frente al daño oxidativo inducido en eritrocitos con distintos contenidos de colesterol. Tesis doctoral. Universidad de Salamanca, Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular; 2009.
26. Navarro-Aviño P, Aguilar I. Lopez-Moya. R. Aspectos Bioquímicos y Genéticos de la Tolerancia y Acumulación de Metales Pesados en Plantas. *Ecosistemas* 2007 Vol.16 Núm. 2. [Visitada 05.12.2013]. Disponible en: <http://www.revistaecosistemas.net/articulo.asp?Id=488>
27. Lehninger A. Bioquímica 18va. Edic. Editorial Omega S.A. Barcelona; 2009
28. Ojeda E. Estudio de Dieta Total. Estimación de la ingesta de cadmio en la población de la ciudad de Valdivia. Chile. Valdivia – Chile; 2008
29. Azcon-Bieto, Talon M. Fundamento de Fisiología vegetal. 2 da. Edición McGraw-Mill- interamericana de España S.A.U.2008.
30. Skoog D. Análisis Instrumental. México. Ed. Interamericana. p.16-19; 2000.
31. Khan I. *et al.* Determination of heavy metals and pesticides in ginseng products. *Journal of AOAC International.* 84: 936-9; 2001.

32. Horwitz W, Latimer G. Official Methods of Analysis of AOAC INTERNACIONAL.18va Edic. Current through vision; 2005.

33. Norma técnica peruana. Comisión de Reglamentos Técnicos y comerciales – INDECOPI.1era Edic. 2006.

ANEXOS

FOTO N°01. MUESTRA MOLIDA DE HOJA, CORTEZA Y RAIZ DE *Maytenus macrocarpa*



FOTO N°02. DETERMINANDO LA HUMEDAD DE LA MUESTRA



FOTO N°03. DETERMINACION DE CENIZAS DE LA MUESTRA



FOTO N°04. CENIZAS DE LA MUESTRA

