



**UNAP**



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS**

**DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS DE  
ONCE MORFOTIPOS DE *Bixa orellana* L. POR MÉTODOS  
ESPECTROFOTOMÉTRICOS**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADA POR:**

**MELANYE MARIANA SUÁREZ ALVARADO**

**ASESORES:**

**Q.F MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.  
Ing. JORGE YSAAC VILLACRÉS VALLEJO, MSc.**

**IQUITOS, PERÚ**

**2021**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



Facultad de Farmacia y Bioquímica  
Escuela Profesional de Facultad de Farmacia y Bioquímica

"Año del Bicentenario del Perú: 200 años de Independencia"

## ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS N°016-PCGT-FFyB-UNAP-2021/OFICIO N°412-DINV-UNAP-2020

En la ciudad de Iquitos, Distrito de Iquitos, Departamento de Loreto, por vía Zoom de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, a los 09 días del mes de abril de 2021, a horas 8 am se dio inicio a la sustentación pública de Tesis titulado "DETERMINACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS DE HOJAS DE ONCE MORFOTIPOS DE *Bixa orellana* L. POR MÉTODOS ESPECTROFOTOMÉTRICOS", aprobado con Resolución Decanal N°050-2021-FFyB-UNAP, presentado por la Bachiller: MELANYE MARIANA SUÁREZ ALVARADO, para optar el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a) que otorga la Universidad de acuerdo a Ley y Estatuto.

El jurado calificador y dictaminador designado mediante Resolución Decanal N°275-2020-FFyB-UNAP, está integrada por:

Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.	Presidente
ING. CLETO JARA HERRERA, MSc.	Miembro
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr.	Miembro

Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas necesarias, las cuales fueron respondidas: Satisfactoriamente.

El jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la tesis han sido aprobada con la calificación Buena.

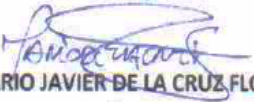
Estando la bachiller apta para obtener el Título Profesional de Químico(a) Farmacéutico(a).

Siendo las 9:45 am se dio por terminado el acto académico.

  
Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.  
Presidente

  
ING. CLETO JARA HERRERA, MSc.  
Miembro

  
Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOAPAZA VALLADARES, Mgr.  
Miembro

  
Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.  
Asesor

  
JORGE YSAAC VILLACRES VALLEJO, MSc.  
Asesor

JURADOS Y ASESORES



---

**Q.F. JOSÉ DANIEL TORRES TEJADA, Dr.**

CQFP N° 05857  
Presidente



---

**Q.F. CARLOS ENRIQUE CALLOPAZA VALLADARES, Mgr.**


CQFP N° 05274  
Miembro



---

**Ing. CLETO JARA HERRERA, MSc.**

CIP N° 63042  
Miembro



---

**Q.F. MARIO JAVIER DE LA CRUZ FLORES, Mgr.**

CQFP N° 13374  
Asesor



---

**Ing. JORGE YSAAC VILLACRÉS VALLEJO, MSc.**

CIP N° 62013  
Asesor

## DEDICATORIA

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida y permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

“La motivación es el empuje del éxito; el éxito es la plenitud de la vida; la vida no sería vida si no hubiera una familia”.

Por ellos con cariño y gratitud dedico esta tesis a mis amados padres Álvaro Edislao Suarez Mera y Lida Alvarado Ruiz, quienes impulsan mi vida, me apoyan constantemente en mis éxitos personales y luchan a cada momento por mí, enseñándome el camino justo de la vida.

A mis hermanas Priscila y Alicia, quien con su calor humano me motivó a estudiar con ahínco para culminar mi carrera profesional.

*Melanye Mariana, Suárez Alvarado*

## AGRADECIMIENTOS

Agradecer a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme una vida llena de aprendizajes y experiencias que me ayudó a culminar mi carrera profesional.

Quiero expresar mi sincero agradecimiento a mis asesores Q.F. Mario Javier de la Cruz Flores, Mgr. e Ing. Jorge Ysaac Villacres Vallejo, MSc por haber confiado en mí y animarme a emprender la elaboración de esta tesis. Al proyecto de investigación “Obtención de morfotipo promisorios de *Bixa orellana* L. “achiote” en base a estudios integrados para la producción de colorantes y biomasa Iquitos – Perú.

Le doy gracias a mis padres Álvaro Suarez Mera y Lidia Alvarado Ruiz, por apoyarme en todo momento, por los valores que me han inculcado, por haberme dado la oportunidad de tener una excelente educación en el transcurso de mi vida. Sobre todo, por ser un excelente ejemplo de vida a seguir.

Quiero agradecer a mis hermanas Priscila Suarez Alvarado y Alicia Santana Romero, ellas fueron el principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, siendo en mí las bases de responsabilidad y deseos de superación, en ellas tengo el espejo en el cual me quiero reflejar pues sus virtudes infinitas y su gran corazón me llevan a admirarla cada día más.

## INDICE DEL CONTENIDO

	Páginas
Portada	i
Acta de sustentación	ii
Jurado y asesor	iii
Dedicatoria	iv
Agradecimiento	v
Índice de contenido	vi
Índice de tablas	vii
Índice de figuras	viii
Resumen	ix
Abstract	x
INTRODUCCIÓN	01
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	02
1.1. Antecedentes	02
1.2. Bases teóricas	04
1.3. Definición de términos básicos	12
CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES	13
2.1. Formulación de la hipótesis	13
2.2. Variables y su operacionalización	13
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	15
3.1. Tipo y diseño	15
3.2. Diseño muestral	15
3.3. Procedimientos de recolección de datos	16
3.4. Procesamiento y análisis de la información	19
3.5. Aspectos éticos	19
CAPÍTULO IV: RESULTADOS	20
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	29
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	31
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	32
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	33
ANEXOS	
1. Constancia de certificación de la especie vegetal	
2. Flujograma de la cuantificación de compuestos fenólicos.	
3. Flujograma de la cuantificación de saponinas.	
4. Flujograma de la cuantificación de alcaloides.	
5. Clasificación de <i>Bixa orellana</i> L. en función a morfología y características de flores y frutos del arbusto	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Compuestos fenólicos presentes en hojas por cada morfotipo de <i>B. orellana</i> L.	20
<b>Tabla 2.</b> Descriptivos de los grupos de estudio – compuestos fenólicos con un intervalo de confianza al 95%.	21
<b>Tabla 3.</b> Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – compuestos fenólicos	21
<b>Tabla 4.</b> Prueba de homogeneidad de varianzas – compuestos fenólicos.	22
<b>Tabla 5.</b> Análisis de varianza de los grupos de estudio – compuestos fenólicos.	23
<b>Tabla 6.</b> Comparaciones múltiples entre los grupos sobre el contenido de fenoles totales por prueba de Duncan <sup>a</sup> .	24
<b>Tabla 7.</b> Comparaciones múltiples entre los grupos sobre el contenido de flavonoides. Duncan <sup>a</sup>	25
<b>Tabla 8.</b> <i>Comparaciones múltiples entre los grupos sobre el contenido de antocianinas - Duncan<sup>a</sup></i>	26
<b>Tabla 9.</b> Contenido de alcaloides presentes en hojas por cada morfotipo de <i>Bixa orellana</i> L.	27
<b>Tabla 10.</b> Contenido de saponinas presentes en hojas por cada morfotipo de <i>B. orellana</i> L.	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura química de los principales pigmentos de <i>B. orellana</i> L.	7
<b>Figura 2.</b> Estructura básica de flavonoides.	10



## RESUMEN

El presente trabajo de investigación estuvo orientado a identificación y determinación espectrofotométrica de metabolitos secundarios de once morfotipos de hojas de *B. orellana* L. recolectadas en el Jardín Botánico de Plantas Medicinales de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Con respecto a los valores obtenidos de fenoles totales existen cuatro morfotipos con valores máximos: morfotipo 9, 11, 10 y 7 con 17567,004 mg/100g, 15724,657 mg/100g, 15165,373 mg/100g y 14814,449 mg/100g respectivamente. Para flavonoides morfotipo 9 con 86,473 mg/100g, morfotipo 11 tiene 86,372 mg/100g, morfotipo 10 con 85,101 mg/100g y el morfotipo 7 con 84,080 mg/100g. Para antocianinas morfotipo 9, 11, 10 y 7 con 11,210; 4,724 mg/100g; 4,341 mg/100g y 4,123 mg/100g respectivamente. Para catequinas morfotipo 9, 11, 10 y 7 con 0,018; 0,017 mg/100g; 0,005 mg/100g y 0,004 mg/100g respectivamente. En valores obtenidos para alcaloides, los morfotipos 9, 11, 10 y 7 presentan 45,82 mg/100g, 44,94 mg/100g, 39,72 mg/100g y 39,04 mg/100g respectivamente, siendo estos valores los más altos; y, para saponinas los morfotipos 9, 11, 10 y 7 presentan 577,741 mg/100g, 567,654 mg/100g, 549,561 mg/100g y 514,583 mg/100g contienen valores más altos en comparación con los otros morfotipos. Los resultados obtenidos de los once morfotipos fueron evaluados mediante el Análisis de Varianza y Prueba de Duncan. Se concluye que *B. orellana* L., es una planta a la que se indica presencia de compuestos bioactivos: saponinas, alcaloides y flavonoides; las mismas que se les atribuyen propiedades fisiológicas entre las que se encuentran: actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antialérgica, antiviral, anticancerígena, antioxidante, entre otras más.

**Palabras clave:** extractos, *Bixa orellana* L., flavonoides, identificación, espectrofotometría.

## ABSTRACT

The present research work was aimed at identification and spectrophotometric determination of secondary metabolites of eleven morphotypes of *B. orellana* L. leaves collected in the Botanical Garden of Medicinal Plants of the Faculty of Agronomy of the National University of the Peruvian Amazon. Regarding the values obtained for total phenols, there are four morphotypes with maximum values: morphotype 9, 11, 10 and 7 with 17567.004 mg / 100g, 15724.657 mg / 100g, 15165.373 mg / 100g and 14814.449 mg / 100g respectively. For flavonoids morphotype 9 with 86.473 mg / 100g, morphotype 11 has 86.372 mg / 100g, morphotype 10 with 85.101 mg / 100g and morphotype 7 with 84.080 mg / 100g. For anthocyanins morphotype 9, 11, 10 and 7 with 11,210; 4.724 mg / 100g; 4.341 mg / 100g and 4.123 mg / 100g respectively. For morphotype catechins 9, 11, 10 and 7 with 0.018; 0.017mg / 100g; 0.005 mg / 100g and 0.004 mg / 100g respectively. In values obtained for alkaloids, morphotypes 9, 11, 10 and 7 present 45.82 mg / 100g, 44.94 mg / 100g, 39.72 mg / 100g and 39.04 mg / 100g respectively, these values being the most tall; and, for saponins, morphotypes 9, 11, 10 and 7 present 577,741 mg / 100g, 567,654 mg / 100g, 549,561 mg / 100g and 514,583 mg / 100g contain higher values compared to the other morphotypes. The results obtained from the eleven morphotypes were evaluated using the Analysis of Variance and Duncan's Test. It is concluded that *B. orellana* L., is a plant to which the presence of bioactive compounds is indicated: saponins, alkaloids and flavonoids; the same ones that are attributed physiological properties among which are: antimicrobial, anti-inflammatory, antiallergic, antiviral, anticancer, antioxidant, among others.

**Keywords:** extracts, *Bixa orellana* L., flavonoids, identification, spectrophotometry.

## INTRODUCCIÓN

En nuestro país, la medicación a partir de plantas medicinales es ampliamente difundida, pero hay pocas publicaciones (1). Una planta de mucha importancia algo estudiada es la *B. orellana* L. (achiote); en diversas zonas del Perú, las hojas de esta especie son ampliamente utilizadas para el tratamiento de la inflamación de la próstata y en su forma de infusión, para tratar los procesos de la gastritis y la úlcera, aun cuando esta última forma de tratamiento tiene poca difusión siendo de mayor uso en la región de la selva alta (2).

*Bixa orellana* L. conocida popularmente como achiote, es una planta a la que se indica la presencia de compuestos bioactivos: saponinas, terpenos, quinonas, cumarinas, alcaloides y flavonoides; a los cuales se les atribuyen propiedades farmacológicas entre las que se encuentran: actividad antimicrobiana, antioxidante, antiulcerosa, antiinflamatoria, antialérgica, anticancerígena, antiviral, entre otras más (2-5)

Los metabolitos secundarios pueden ser cuantificados por diferentes métodos, siendo algunos de los más confiables los métodos espectrofotométricos y cromatográficos (5-7). El estudio de los metabolitos secundarios de *B. orellana* L que crece en la región Loreto, son insipientes. La cuantificación de estos compuestos con actividad biológica, es determinante para poder continuar con los ensayos de actividad biológica, por lo cual el problema de investigación planteado es de gran aporte para posteriores investigaciones.

El presente estudio de investigación, tuvo como objetivo determinar metabolitos secundarios de hojas de once morfotipos de *B. orellana* L. por métodos espectrofotométricos y la misma aporta información sobre compuestos naturales presentes en la especie vegetal estudiada y que podrían representar una alternativa farmacológica para el tratamiento de desórdenes inmunológicos, dando realce al valor ecológico de la diversidad biológica de la región Loreto.

## CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

### 1.1. Antecedentes

**Naranjo, A. et al.** (2017), en su trabajo “Optimización del proceso de lixiviación de los compuestos bioactivos de las semillas de *B. orellana* L. (annato)”. Como metodología empleada utilizó el método de superficies de respuesta y aplicó un diseño factorial central compuesto en el cual consideró el efecto de: pH (3-10), relación semilla/solvente ( $R_{ss}$ ) (1:2–1:6) y concentración de etanol ( $C_{OH}$ ) (50%-96%) sobre las variables respuestas: fenoles totales ( $F_t$ ) y carotenos totales ( $C_t$ ). La actividad antimicrobiana mediante el método colorimétrico de micro dilución en caldo y la actividad antioxidante mediante los métodos de FRAP y ABTS. En sus resultados, los valores de los factores que maximizaron el proceso de lixiviación fueron: pH: 4,0;  $R_{ss}$ : 1:5 y  $C_{OH}$ : 80,0%. Asimismo, obtuvo valores preestablecidos de 2,12 ( $g_{AG}/5g$  semilla) para  $F_t$  y 313,68  $mg_{Ct}/g$  extracto para  $C_t$  con sesgos relativos de -16,88% y -4,64% respectivamente. La cinética de liberación máxima de compuestos bioactivos bajo condiciones óptimas de extracción, fue lograda entre 240 y 270 min. Las concentraciones mínimas inhibitorias del extracto optimizado fueron 2048 $\mu g/mg$  contra *Listeria monocytogenes*, 1024 $\mu g/mg$  contra *Escherichia coli*, 64 $\mu g/mg$  contra *Staphylococcus aureus* y 8 $\mu g/mg$  contra *Bacillus cereus*. Observó que el pH tiene efecto estadísticamente significativo sobre la actividad antioxidante del extracto optimizado. Como conclusiones, optimizó el proceso de lixiviación con valores para los factores: pH=4,0;  $R_{ss}$ : 1:5 y  $C_{OH}$ : 80,0%. Comprobó la actividad antimicrobiana *in vitro* y el efecto estadísticamente significativo del pH sobre la actividad antioxidante del extracto (9).

**Sepúlveda, C. et al.** (2016), evaluó el efecto del tiempo de extracción y la relación solvente sobre el contenido de fenoles totales, así como el efecto del contenido de sólidos y el pH de la solución, sobre la

actividad antioxidante del extracto de hojas de *B. orellana*. El método usado para el contenido total de fenoles fue *Folin-Ciocalteu* y la actividad antioxidante se determinó por los métodos espectrofotométricos de reacción con el radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6- ácido sulfónico) y la medida de la capacidad reductora sobre el  $\text{Fe}^{+3}$ . Los resultados sobre las condiciones del proceso que más favorecen la extracción de compuestos fenólicos desde las hojas de *B. orellana* L. son: tiempo de extracción de 60 h y relación solvente/ hojas (v/p) de 4/1; el contenido máximo de fenoles totales fue de  $144,77 \pm 9,66 \text{ mg}_{\text{AT}} \cdot \text{g}^{-1}$ , que al someterlo a una solución de pH de 8 y  $11,7^\circ$  Brix, presenta una actividad antioxidante de  $4406,83 \pm 43,30 \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}$  por el método de reacción con el radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6- ácido sulfónico) y  $4547,22 \pm 53,19 \mu\text{mol}_{\text{ET}} \cdot \text{g}^{-1}$  por el método de medida de la capacidad reductora sobre el  $\text{Fe}^{+3}$  (10).

**Ayala et al.** (2016), en su estudio "Obtención de un colorante natural de las semillas de *B. orellana* L. (Bixaceae) como alternativa para uso cosmético. Determinó la mayor eficiencia del proceso de extracción en relación a la cantidad de semilla/volumen de solvente, concentración del solvente, tiempo de agitación, pH y temperatura de secado; y en la realización de controles organolépticos y fisicoquímicos del colorante obtenido de la semilla de *B. orellana* L. Sus resultados evidenciaron que los parámetros de mayor eficiencia en el proceso de extracción fueron: 1:3 como la relación cantidad de semilla/volumen de solvente, 2% de hidróxido de potasio como la concentración de solvente, 60 minutos como tiempo de agitación, y  $58^\circ\text{C}$  como la temperatura óptima. Las características organolépticas del polvo del colorante obtenido fueron: color anaranjado y rojo ladrillo a concentraciones de 0,5% y 2% p/v respectivamente, olor metálico, textura suave y aspecto de polvo fino. Respecto a las características fisicoquímicas se observó que el colorante de *B. orellana* L. se precipitó a  $\text{pH}=2$  a  $2,5$  y obtuvo un mayor rendimiento a  $\text{pH}= 2,25$  (11).

**Padró, L. et al.** (2016), en el estudio “Caracterización preliminar de tinturas al 10% de *B. orellana* L. Fueron caracterizadas desde el punto de vista físico, físico-químico y químico cualitativo. Las tinturas fueron obtenidas empleando como solvente etanol al 70%, por métodos de extracción, maceración y percolación. El valor de pH=6, denotando un carácter ácido débil. En sus resultados, los valores de índice de refracción, densidad relativa y sólidos totales resultaron ser superiores en las tinturas obtenidas por percolación. El análisis capilar mostró una imagen vivamente coloreada, observándose una franja de color naranja, casi lineal, una subfranja de color amarillo y una banda de color carmelita. La determinación de la composición química cualitativa para ambas tinturas mostró un comportamiento muy parecido, evidenciándose la presencia de alcaloides, cumarinas, saponinas, flavonoides, azúcares reductores, triterpenos y esteroides, aminas y aminoácidos, fenoles y taninos, no identificándose quinonas, resinas, glucósidos cardíacos, y mucílagos (12).

## 1.2. Bases teóricas

### 1.2.1 Especie en estudio *Bixa orellana* L. “achiote”

#### Identificación taxonómica

Reino : Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Malvales

Familia: Bixaceae

Género: *Bixa*

Especie: *Bixa orellana* L. (13).



**Descripción botánica:** es un arbusto de las regiones intertropicales de América. Pertenece a la familia *Bixaceae*, y también se le conoce con los nombres: *Bixa acuminata*, *B. americana*, *B. odorata*, *B. platycarpa*, *B. purpurea*, *B. tinctoria*, *B. upatensis*, *B. urucurana*,

*Orellana americana*, *O. orellana*. Sus nombres comunes son: axiote, achiote, achiotec, bijol, urucú, urucum, rocú, annatto, orellana, changerica entre otros (14).

*B. orellana* es un arbusto perenne, de 2 a 6 m de altura, copa baja y extendida; tallo pardo y ramifico a poca altura del terreno. Las hojas son simples, grandes, verdosas claras, de márgenes lisos. Las flores se disponen en ramilletes, blanquecinas a rosadas según las variedades. El fruto es una cápsula roja de 2 a 6 cm de largo, con pelos gruesos espinosos, puede ser verdoso oscuro a morado (según las variedades), que al madurar pasa a pardo rojizo oscuro.

En cada valva hay semillas en número variable (10-50, en relación con el tamaño capsular). La semilla es comprimida, de 5 mm de largo, con tegumento recubierto de una sustancia viscosa de color rojizo intenso (15). El pigmento está localizado en la superficie de la semilla, como una cubierta resinosa y aceitosa, está formado fundamentalmente por bixina (cis y trans), con trazas de norbixina, éster de dimetil bixina y otros apocarotenoides.

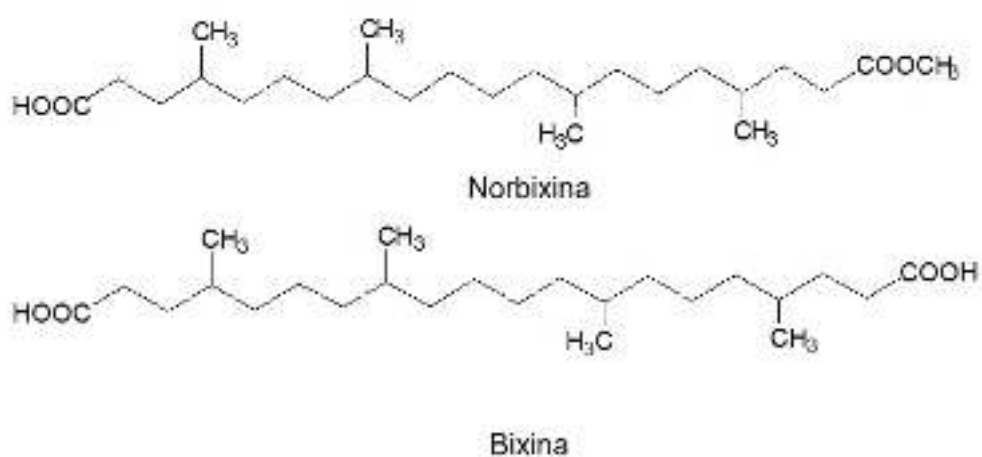
**Información etnomédica:** según Brack E (7) y Nalvarte W (16), encontraron que en la medicina tradicional ésta planta es utilizada en:

- Fiebre: tomar la infusión de las hojas.
- Inflamaciones dérmicas y vaginales: aplicar la maceración acuosa de las hojas.
- Inflamación ocular: instilar el mucílago resultante de la maceración acuosa de la corteza.
- Cefálico: aplicar la pasta de las hojas machacadas en la frente y sienas.
- Dolores renales: cocción de las hojas.
- Conjuntivitis: aplicar la maceración acuosa de las hojas o de los tallos.
- Sedante: tomar el cocimiento de las hojas o de la corteza en mezcla con hojas de toronjil, rosa cisa y rosas.

- Antiemético: tomar el líquido de las hojas machacadas.
- Antidiarreico: tomar el líquido de las hojas machacadas o tomar la infusión de las hojas o semillas.
- Vómitos: en infusión, poner 3 hojas por cada taza, tomar una taza 3 veces al día.
- Tónico estomacal: tomar la maceración acuosa de las semillas.
- Digestivo: tomar el cocimiento de las hojas o corteza.
- Depurativo: tomar el cocimiento de la corteza de la corteza raspada.
- Hepatitis: tomar la decocción de las yemas florales.
- Malestar del hígado: las semillas y el tinte, tomar el cocimiento de los cogollos.
- Malestar de la garganta, afecciones respiratorias (tos, bronquitis): tomar la infusión de las hojas y semillas.
- Asma: tomar el cocimiento de la raíz.
- Expectorante: tomar la infusión de las semillas.
- Amigdalitis: tomar el polvo de las semillas mezcladas con miel de abejas.
- Acarosis (caracha): aplicar las semillas machacadas y maceradas en aceite de higuierillas.
- Lepra: tomar el aceite de las semillas o aplicar la pasta de las hojas con sulfato de magnesio.
- Infecciones a la piel: emplasto de las hojas sobre la piel previa maceración en agua. Dejar de 9 a 12 hojas en un litro de agua durante una noche y aplicar después sobre la lesión.
- Antiséptico vaginal: poner de 9 a 12 hojas restregadas durante una noche en un litro de agua. El líquido se aplica en lavados vaginales.
- Cicatrizante: aplicar la maceración acuosa de las hojas serenadas o lavar la herida con el cocimiento de las hojas.
- Quemaduras: aplicar las semillas frescas trituradas.
- Diurético: tomar el cocimiento de la raíz.
- Hipertensión: tomar la maceración acuosa de las hojas.



- Cardiotónico: tomar la infusión de las semillas o de las hojas.
- Antídoto contra el cianuro y ácido cianhídrico (yuca amarga): comer el fruto o tomar la infusión del fruto y semillas.
- Malaria: tomar el cocimiento de la raíz.



**Figura 1.** Estructura química de los principales pigmentos de *B. orellana* L.

**Composición química:** es rica en carotenoides, especialmente apocarotenos como la bixina, isobixina y norbixina; también se describen el beta-caroteno, criptoxantina, luteína, zeaxantina, orellina, entre otros. Además, las semillas contienen lípidos como el ácido linoleico y en menor cantidad el alfa-linolénico y oleico; aminoácidos como el glutamato, aspartato y leucina; contiene altas concentraciones de fósforo y escasas de calcio y gran cantidad de hierro y zinc (17,18).

### 1.2.1. Estudios toxicológicos

Los estudios realizados sobre toxicidad aguda en extractos de Achiote, demostraron su baja toxicidad (19). Asimismo, estudios realizados en ratas cepa Wistar en dosis 2 000 mg/kg/día de achiote, demostró ser inocuo (20). Un estudio de tolerancia cutánea en conejos realizados con extracto de *B. orellana* L. (achiote), no mostró

alteraciones significativas, la misma que fue confirmado por estudios histológicos de muestras de piel y cabello. Otros investigadores emplearon extracto alcohólico de *B. orellana* L. (achiote) en piel rasgada de conejos Nueva Zelanda y estos mismos concluyeron que no es un irritante dérmico primario (21).

De igual manera, un estudio de irritabilidad en mucosa oral de extracto de *Bixa*, realizado en Hámsteres, no mostró alteraciones en mucosa oral de los animales analizados; durante el ensayo el índice de irritación agudo fue de 0,0 y no se observaron otros signos clínicos en los animales (22).

Otros estudios subcrónicos de toxicidad oral, administrados durante trece semanas en ratas Sprague-Dawley, demostraron no presentar signos tóxicos o letalidad (23).

### **1.2.3 Metabolitos Secundarios**

Metabolismo, conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples o viceversa.

Las plantas, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos se denominan metabolitos secundarios (24).

Muchos son pigmentos que proporcionan color a flores y frutos, jugando un papel esencial en la reproducción atrayendo a insectos polinizadores, atrayendo a animales que van a utilizar los frutos como fuente de alimento, contribuyendo de esta forma a la dispersión de semillas.

También reciben el nombre de productos naturales y tienen un importante, significativo valor medicinal y económico, derivado éste último de su uso en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica. Un gran número de estos productos naturales, que ya se usaban en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, se utilizan en la actualidad como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas, colorantes, etc. (24).

Entre los diferentes metabolitos secundarios están:

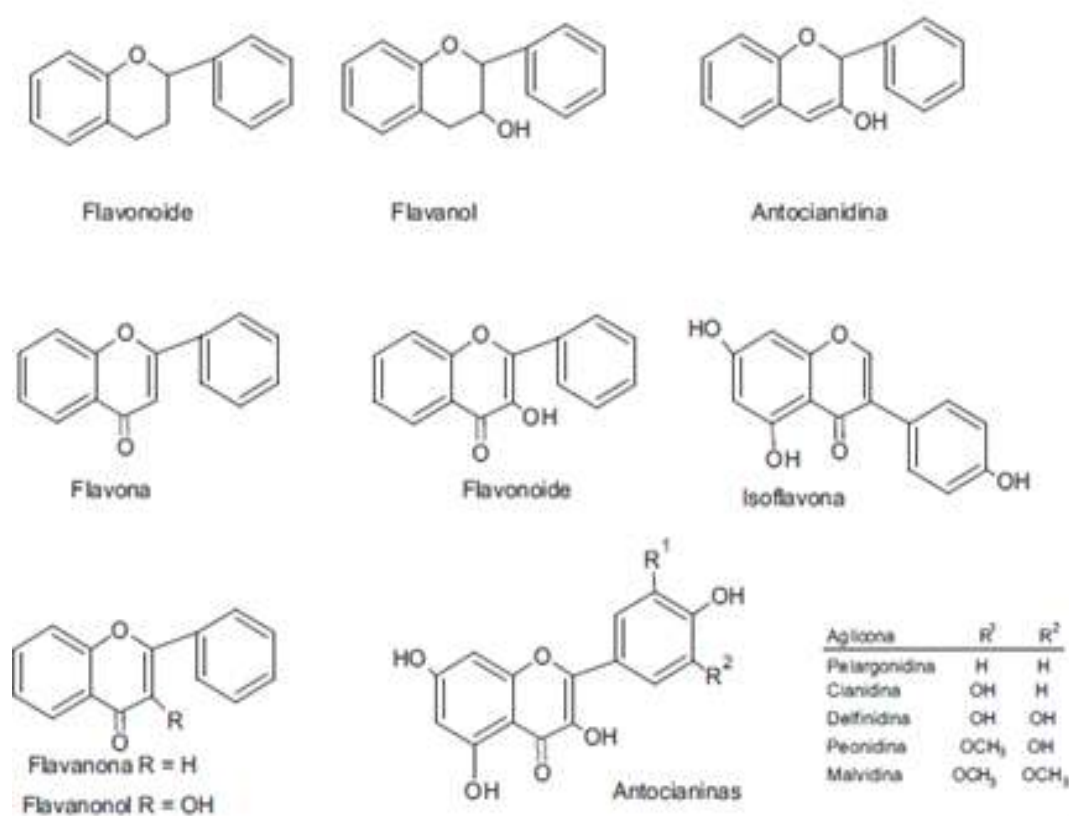
### **A. Compuestos Fenólicos**

Desde un punto de vista químico, los compuestos fenólicos constan de un anillo bencénico que contiene uno o diversos grupos hidroxilo y abarcan a más de 8000 compuestos distintos y han demostrado poseer importante actividad antioxidante (25).

Son sustancias químicas orgánicas con importancia biológica, se encuentran formando parte de algunas estructuras celulares de plantas; otros se forman como productos del metabolismo celular o se producen por algunos vegetales como compuestos bactericidas. Su presencia en las plantas está relacionada a su actividad, su capacidad de unir especies con oxígeno activo y especies electrófilas, la capacidad de inhibir la nitrosación y de quelatar iones metálicos, su potencial auto oxidación y su capacidad de modular ciertas actividades enzimáticas en la célula (26).

Son importantes en bioquímica vegetal, donde tienen funciones diversas desde la coloración de flores y frutos hasta la impregnación de lignina de las paredes pecto-celulósicas (15), en el crecimiento y reproducción, y en la protección contra patógenos externos y el estrés, como la radiación UV y los depredadores (27).

Entre los compuestos fenólicos tenemos: flavonoides, cumarinas, cromenos y benzofuranos. De éstos, los más característicos son los flavonoides, que son un grupo muy numeroso y se conocen cerca de diez clases; todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema  $C_6 - C_3 - C_6$ , en el cual los dos anillos aromáticos están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo (28).



Fuente: Sotero *et al.* (2011).

**Figura 2.** Estructura básica de flavonoides.

Dentro de este grupo están: flavonas y flavononas, que generalmente se encuentran en frutos cítricos; del mismo modo las antocianinas, responsables por el color rojo del vino, las catequinas en el té y procianidinas en la semilla de cacao. Aunque los hábitos alimenticios son muy diversos en el mundo la ingestión media por día de algún tipo de flavonoide se estima en 23 mg/día. La concentración total de

compuestos polifenólicos en vino varía de 1,8 a 4,0 g/L con un promedio de 2,54 g/L para el vino tinto y de 0,1 a 0,3 g/L con un promedio de 0,24 g/L para el vino blanco (27).

## **B. Saponinas**

Son glicósidos hidrosolubles con propiedades tensoactivas y hemolíticas, ambas atribuidas a sus características estructurales de naturaleza anfifílica (también llamadas anfipáticas, son aquellas moléculas que poseen un extremo hidrofílico, es decir, que es soluble en agua, y otro que es hidrófobo, lo cual significa que rechaza el agua. Así, por ejemplo, cualquier tipo de aceite es hidrófobo porque no puede incorporarse al agua). Estos metabolitos también pueden ejercer una amplia actividad biológica y farmacológica, destacándose su efecto insecticida, antiinflamatorio, leishmanicida, anti-agregante plaquetario, broncolítico, hipo-colesterolémico, etc. (29,30).

## **C. Alcaloides**

Representan un grupo de productos naturales, muchos de estos agentes tienen efectos fisiológicos potentes en los sistemas de los mamíferos, así como en otros organismos; y, como consecuencia, algunos constituyen importantes agentes terapéuticos. La atropina, la morfina, la quinina y la vincristina son representativas de una serie de agentes utilizados para tratar un rango de enfermedades que van desde la malaria hasta el cáncer (31).

### **1.2.4 Análisis Químicos**

Actualmente, dentro de las técnicas analíticas frecuentemente usadas para la cuantificación de metabolitos secundarios, está la espectrofotometría de absorción, la misma que se fundamenta en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y, a su vez, la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la

concentración, cumpliendo con la ley de Lambert y Beer. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro de absorción, en el que se selecciona la longitud de onda de máxima absorción de la solución y luego se mide la cantidad de luz absorbida por la misma a diferentes concentraciones (32,33).

Estos métodos consisten básicamente en hacer reaccionar los metabolitos secundarios con reactantes que generen productos coloreados que puedan ser medidos por espectrofotometría en la región visible del espectro electromagnético (33).

### **1.3. Definición de términos básicos**

Metabolitos secundarios: compuestos químicos sintetizados por las plantas que cumplen funciones no esenciales en ellas, de forma que su ausencia no es letal para el organismo, al contrario que los metabolitos primarios. Los metabolitos secundarios intervienen en las interacciones ecológicas entre la planta y su ambiente (21).

Alcaloide: compuesto químico que posee un nitrógeno heterocíclico procedente del metabolismo de aminoácidos; de proceder de otra vía, se define como pseudoalcaloide (22).

Compuestos fenólicos: Son sustancias químicas orgánicas con importancia biológica, se encuentran formando parte de algunas estructuras celulares de plantas; otros se forman como productos del metabolismo celular o se producen por algunos vegetales como compuestos bactericidas (24).

## CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

### 2.1. Formulación de hipótesis

La determinación de metabolitos secundarios: polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides y saponinas en hojas de once morfotipos de *B. orellana* L., es posible realizarlo por métodos espectrofotométricos.

### 2.2. Variables y su operacionalización

#### Variables

**Metabolitos secundarios**, sustancias químicas producto del metabolismo de plantas superiores, como son polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas en hojas de once morfotipos de *B. orellana* L.

## Operacionalización de variables

Variable de estudio	Definición operacional	Tipo por su naturaleza	Indicadores	Índice	Escala de medición	Medio de verificación
Metabolitos secundarios	Producto con diversos compuestos químicos, obtenido por maceración, filtrado, evaporado (solvente) y llevado hasta sequedad, la misma que es evaluada experimentalmente por métodos espectrofotométricos	Cuantitativa	polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides, saponinas.	mg/100g.	Razón	Hoja de reporte analítico



## CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

### 5.1. Tipo y diseño

**Tipo de estudio:** descriptivo debido a que la intervención fue a propósito de la investigación y al mismo tiempo cumplió con la asignación aleatoria de un grupo control.

**Diseño:** experimental porque se recopiló y analizó los datos obtenidos de distintas fuentes con intervención del investigador, se controló deliberadamente las variables para delimitar relaciones entre ellas a fin de medir los resultados de manera concluyente.

### 5.2. Diseño muestral

**Población:** estuvo constituida por once morfotipos de *B. orellana* L.

**Muestra:** dos (02) kg de hojas de once morfotipos.

**Muestreo o selección de la muestra:** la recolección fue por conveniencia en un solo punto de la región Loreto en la Amazonía peruana, empezó desde la ubicación de los once morfotipos, en el Banco de germoplasma del Taller de Investigación “cultivo y conservación de plantas medicinales Amazónicas” de la Facultad de Agronomía.

**Criterios de selección:** se incluyó material vegetal identificado en buen estado de conservación.

### **3.3. Procedimientos de recolección de datos**

#### **A. Obtención del material botánico**

Colecta de especies vegetales: utilizando tijeras podadoras, se cortó las hojas de once morfotipos de *B. orellana* L. Se depositaron las muestras en sobres de manila debidamente rotulados, en donde se mantuvieron hasta su llegada al laboratorio.

Preparación y limpieza de muestras vegetales: una vez que las muestras del material vegetal llegaron al laboratorio, se limpiaron y se cortaron las hojas en pequeños fragmentos. Al mismo tiempo se realizó una selección de hojas en buen estado para la elaboración de excicatas y su posterior identificación y certificación.

Certificación de la especie vegetal: El Herbarium Amazonense de la Universidad Nacional de Amazonia Peruana – UNAP certificó la especie vegetal y entregó una constancia con su respectivo código de identificación.

Secado y micropulverizado de las muestras vegetales: Se trasladó a un ambiente de secado con una temperatura de 40 °C por una semana. Después del secado de muestras, se realizó la molienda, quedando las muestras en polvo (micropulverizada). El pulverizado se guardó en frascos de color ámbar para su posterior uso en los diferentes ensayos.

#### **B. Determinación de metabolitos secundarios**

Preparación del extracto: se pesaron 0,5 g de muestra seca y micropulverizada, se extraerán sucesivamente con 3 volúmenes

de 25 ml de etanol absoluto acidulado con un 1% de ácido fórmico. El extracto se evaporó hasta sequedad en estufa a 40 °C. El residuo seco se re disolvió en una solución de metanol al 50% acidulado con un 1% de ácido fórmico, llevado a un volumen de 10 ml. Se guardó de 2-8 °C hasta su posterior análisis.

**Cuantificación de compuestos fenólicos:** se utilizaron las técnicas espectrofotométricas de UV/vis descritos por Valls *et al.* (23).

Determinación de polifenoles totales: se realizó la medida del índice de Folin, para lo cual se trataron 40 µl de muestra (preparación del extracto) con 0,5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteau y 2 mL de carbonato sódico al 20% (p/v), y se llevarán a 10 mL. Transcurrida media hora, se efectuó la lectura de absorbancia a 765 nm. Para establecer el calibrado, se utilizaron patrones de ácido gálico de concentraciones entre 0 - 1.000 mg/L (23).

**Determinación de antocianinas y flavonoides totales:** De lo obtenido de la preparación del extracto, se efectuó la determinación de antocianinas a una absorbancia de 535 nm y para los flavonoides se realizó la lectura a 374 nm (23).

**Determinación de catequinas y proantocianidoles:** se aplicó el ensayo de la vainillina, se mezclaron 0,5 mL (de lo obtenido en la preparación del extracto) con 1,25 mL de vainillina en metanol (1%, p/v) y con 1,25 mL de ácido sulfúrico 25% (v/v) en metanol. El blanco se preparó simultáneamente del mismo modo, pero sustituyendo la solución de vainillina por metanol. Se efectuó la lectura de absorbancia a 500 nm pasados 15 minutos. El calibrado se realizó con soluciones

de (+)-catequina (30, 60, 90, 120 mg/L) (23).

**Análisis de alcaloides:** los materiales vegetales (5g) micropulverizadas se extrajeron con metanol durante 24 h en una extracción continua (soxhlet) aparato. El extracto se filtró y se evaporó el metanol en un evaporador rotatorio al vacío a una temperatura de 45 °C a sequedad. Una parte de este residuo se disolvió en HCl 2 N y después se filtró. Un mL de esta solución se transfirió a una de decantación y se lavó con 10 mL de cloroformo (3 veces). El pH de esta solución se ajustó a neutro con 0,1 N NaOH. A continuación, se añadieron 5 mL de solución de verde bromocresol (BCG) y 5 mL de tampón fosfato a esta solución. La mezcla se agitó y el complejo formado se extrajo con 1, 2, 3, y 4 mL de cloroformo por agitación vigorosa. Los extractos se recogieron en un matraz aforado de 10 mL. La absorbancia del complejo en cloroformo se midió a 470 nm (33).

**Análisis de saponinas:** se hizo la adición del reactivo de Lieberman-Burchard (LB) para formar productos coloridos al reaccionar con saponinas. El reactivo LB consistió en una mezcla al 16,7 % de anhídrido acético en ácido sulfúrico concentrado. Inicialmente se elaboró una curva de calibración absorbancia vs. concentración utilizando un estándar. Para esta curva se prepararon soluciones a las siguientes concentraciones: 0,00; 0,05; 0,1; 0,15; 0,20; 0,25; 0,30; 0,35 mg/mL, de cada concentración se prepararon 2 mL, a los cuales se adicionaron 7 mL del reactivo de LB, se agitó 20 s con un vortex y se dejará en reposo 30 min. Finalmente se determinó la longitud de onda de la máxima absorción ( $\lambda$  max) para realizar las lecturas posteriores en el espectrofotómetro, se realizó un barrido con el estándar. (La  $\lambda$  max, de saponinas de quinua es de 528 nm) y a esta longitud de onda se

realizaron las mediciones para la curva de calibración y posteriormente para las muestras de seleccionadas. A partir de la curva de calibración se pudo cuantificar el porcentaje de saponinas presentes en cada muestra evaluada (25).

#### **3.4. Procesamiento y análisis de la información**

Los datos están agrupados y presentados en tablas; y, se expresaron en valores de mg/100g.

#### **3.5. Aspectos éticos**

Se tuvo en cuenta las normas éticas del Instituto Nacional de Salud, reconociendo que las decisiones relativas a las cuestiones éticas relacionadas con la medicina, la ciencia de la vida y las tecnologías conexas pueden tener repercusiones en los individuos, familias, grupos o comunidades y en la especie humana en su conjunto.

## CAPÍTULO IV: RESULTADOS

**Tabla 1.** Compuestos fenólicos presentes en hojas por cada morfotipo de *B. orellana* L.

<b>Bixa orellana</b>	<b>Fenoles Totales</b>	<b>Flavonoides</b>	<b>Antocianinas</b>	<b>Catequinas</b>
<b>L.</b>	<b>mg/100g</b>	<b>mg/100g</b>	<b>mg/100g</b>	<b>mg/100g</b>
M1	8464,930	43,423	2,009	0,003
M2	8750,055	48,950	2,291	0,003
M3	4878,932	40,113	1,029	0,002
M4	8991,315	57,713	2,892	0,003
M5	9364,171	69,231	3,028	0,004
M6	11201,035	80,880	3,333	0,004
M7	14814,449	84,080	4,134	0,004
M8	9270,957	63,535	2,811	0,003
M9	17567,004	86,473	11,210	0,018
M10	15165,373	85,101	4,341	0,005
M11	15724,657	86,372	4,724	0,017

Fuente: elaboración propia

En la tabla 1, se muestra el promedio de todos los valores obtenidos de compuestos fenólicos presentes en hojas de los once morfotipos de *B. orellana* L., siendo importante resaltar que existen cuatro morfotipos con valores máximos: morfotipo 9,11,10 y 7 con 17567,004 mg/100g, 15724,657 mg/100g, 15165,373 mg/100g y 14814,449 mg/100g respectivamente para fenoles totales. Para flavonoides morfotipo 9 con 86,473 mg/100g, morfotipo 11 tiene 86,372 mg/100g, morfotipo 10 con 85,101 mg/100g y el morfotipo 7 con 84,080 mg/100g. Para antocianinas morfotipo 9,11,10 y 7 con 11,210; 4,724 mg/100g; 4,341 mg/100g y 4,123 mg/100g respectivamente. Para catequinas morfotipo 9,11,10 y 7 con 0,018; 0,017 mg/100g; 0,005 mg/100g y 0,004 mg/100g respectivamente.

**Tabla 2.** Descriptivos de los grupos de estudio – compuestos fenólicos con un intervalo de confianza al 95%.

Grupos	N	Media	S	Límite inferior	Límite Superior
Fenoles totales	22	11290,261	3845,701	4878,932	17567,004
Flavonoides	22	67,806	17,640	40,113	86,473
Antocianinas	22	3,799	2,618	1,029	11,210
Catequinas	22	0,006	0,006	0,002	0,018

Fuente: elaboración propia

En la tabla 2, se observa que fenoles totales obtuvieron un promedio de 11290,261 con una desviación estándar de 3845,701; mientras que el promedio para flavonoides fue de 67,806 con desviación estándar de 17,640; el promedio para antocianinas fue de 3,799 con una desviación estándar de 2,618 y en catequinas el promedio fue de 0,006 con una desviación estándar de 0,006. Asimismo, se observa para cada grupo los respectivos intervalos de confianza al 95%.

**Tabla 3.** Prueba de normalidad de los datos según grupo de estudio – compuestos fenólicos

N		Fenoles			
		totales	Flavonoides	Antocianinas	Catequinas
		22	22	22	22
Parámetros	Media	11290,261	67,806	3,799	0,006
normales <sup>a,b</sup>	Desviación estándar	3845,701	17,640	2,618	0,006
Máximas	Absoluta	0,229	0,225	0,267	0,382
diferencias	Positivo	0,229	0,145	0,267	0,382
extremas	Negativo	-0,183	-0,225	-0,153	-0,244
Estadístico de prueba		0,229	0,225	0,267	0,382
Sig. asintótica (bilateral)		0,004 <sup>c</sup>	0,005 <sup>c</sup>	0,000 <sup>c</sup>	0,000 <sup>c</sup>

a. La distribución de prueba es normal.

b. Se calcula a partir de datos.

c. Corrección de significación de Lilliefors.

En la tabla 3, se observa que todos los grupos presentan normalidad, luego de comparar el valor de la sig = 0,229 (22,9%) para fenoles totales; sig= 0,225 (22,5%) para flavonoides; sig= 0,267 (26,7%) para antocianinas y sig=0,382 (38,2%) para catequinas; siendo todos estos valores mayores que el valor de  $\alpha = 0,05(5\%)$  aplicando la prueba de Kolmogorov – Smirnov. El análisis de normalidad nos permite realizar pruebas paramétricas.

**Tabla 4.** Prueba de homogeneidad de varianzas – compuestos fenólicos.

Grupos	Estadístico de			
	Levene	gl1	gl2	Sig.
Fenoles totales	3,103E+16	10	11	0,000
Flavonoides	.	10	.	.
Antocianinas	.	10	.	.
Catequinas	.	10	.	.

Fuente: elaboración propia

En la tabla 4, se muestra los resultados de la prueba para determinar si los grupos presentan varianzas homogéneas, siendo la conclusión con un valor de sig = 0,000 que los grupos no presentan varianzas homogéneas.



**Tabla 5.** Análisis de varianza de los grupos de estudio – compuestos fenólicos.

		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Fenoles totales	Entre grupos	310237177,086	10	31023717,709	1001,826	0,000
	Dentro de grupos	340638,810	11	30967,165		
	Total	310577815,896	21			
Flavonoides	Entre grupos	6534,286	10	653,429	22889,644	0,000
	Dentro de grupos	0,314	11	0,029		
	Total	6534,600	21			
Antocianinas	Entre grupos	143,887	10	14,389	2550,945	0,000
	Dentro de grupos	0,062	11	0,006		
	Total	143,949	21			
Catequinas	Entre grupos	0,001	10	0,000	.	
	Dentro de grupos	0,000	11	0,000		
	Total	0,001	21			

Fuente: elaboración propia

En la tabla 5, se observa los resultados del análisis de varianza siendo la sig = 0,000 un valor menor que el valor de  $\alpha = 0,05$ , se concluye que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio según compuestos fenólicos. Es decir que los grupos producen diferentes compuestos fenólicos.

**Tabla 6.** Comparaciones múltiples entre los grupos sobre el contenido de fenoles totales por prueba de Duncan<sup>a</sup>.

Grupos:		Subconjunto para alfa = 0,05							
Morfo tipo	N	1	2	3	4	5	6	7	8
3	2	4878,932							
1	2		8464,930						
2	2		8750,055	8750,055					
4	2			8991,315	8991,315				
8	2				9270,957				
5	2				9364,171				
6	2					11201,035			
7	2						14814,449		
10	2						15165,373		
11	2							15724,657	
9	2								17567,005
Sig.		1,000	0,133	0,198	0,068	1,000	0,072	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2,000.

**Tabla 7.** Comparaciones múltiples entre los grupos sobre el contenido de flavonoides. *Duncan*<sup>a</sup>

Grupos:		Subconjunto para alfa = 0,05									
Morfotipo	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	2	40,113									
1	2		43,423								
2	2			48,950							
4	2				57,713						
8	2					63,535					
5	2						69,231				
6	2							80,880			
7	2								84,079		
10	2									85,101	
11	2										86,372
9	2										86,473
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	0,562

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2,000.

**Tabla 8.** Comparaciones múltiples entre los grupos sobre el contenido de antocianinas - Duncan<sup>a</sup>

Grupos:		Subconjunto para alfa = 0,05									
Morfotipo	N	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
3	2	1,029									
1	2		2,009								
2	2			2,291							
8	2				2,811						
4	2				2,892	2,892					
5	2					3,028					
6	2						3,333				
7	2							4,134			
10	2								4,341		
11	2									4,724	
9	2										11,210
Sig.		1,000	1,000	1,000	0,304	0,098	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Se visualizan las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

a. Utiliza el tamaño de la muestra de la media armónica = 2,000.

En las tablas 6, 7 y 8 se observan los resultados de las comparaciones múltiples entre los grupos de estudio aplicando la prueba Duncan (prueba que se aplica cuando las varianzas de los grupos no son homogéneas), encontrándose que todos los grupos producen diferentes cantidades de fenoles totales, flavonoides y antocianinas respecto a cada tipo de morfotipo de hojas de *B. orellana* L.

**Tabla 9.** Contenido de alcaloides presentes en hojas por cada morfotipo de *Bixa orellana* L.

<i>Bixa orellana</i> L.	Alcaloides mg/100g
M1	6,70
M2	19,94
M3	4,30
M4	22,42
M5	31,58
M6	36,32
M7	39,04
M8	25,56
M9	45,82
M10	39,72
M11	44,94

Fuente: elaboración propia

En la tabla 9, se muestra todos los valores obtenidos de alcaloides presentes en hojas de los once morfotipos de *B. orellana* L., siendo importante resaltar que los morfotipos 9,11,10 y 7 presentan 45,82 mg/100g, 44,94 mg/100g, 39,72 mg/100g y 39,04 mg/100g respectivamente, siendo estos valores los más altos.

**Tabla 10.** Contenido de saponinas presentes en hojas por cada morfotipo de *B. orellana* L.

Morfotipo	Saponinas	
	mg/g	mg/100g
M1	1,751	175,110
M2	2,782	278,180
M3	1,514	151,425
M4	3,409	340,899
M5	4,259	425,877
M6	4,736	473,575
M7	5,146	514,583
M8	3,526	352,632
M9	5,777	577,741
M10	5,496	549,561
M11	5,677	567,654

En la tabla 10, se muestra todos los valores obtenidos para saponinas presentes en hojas de los once morfotipos de *B. orellana* L., siendo importante resaltar que los morfotipos 9,11,10 y 7 presentan 577,741 mg/100g, 567,654 mg/100g, 549,561 mg/100g y 514,583 mg/100g contienen valores más altos en comparación con los otros morfotipos.

## CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

Las plantas sintetizan y acumulan en sus órganos diferentes metabolitos secundarios, los mismos que intervienen en diversas interacciones complejas entre organismos vivos. Se evaluó metabolitos secundarios polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides y saponinas en hojas de once morfotipos de *B. orellana* L. (2).

Con respecto a los valores obtenidos de fenoles totales existen cuatro morfotipos con valores máximos: morfotipo 9,11,10 y 7 con 17567,004 mg/100g, 15724,657 mg/100g, 15165,373 mg/100g y 14814,449 mg/100g respectivamente. Nuestros resultados, concuerdan con lo obtenido por Sepúlveda, C. *et al.* (2016), en su investigación referida al contenido máximo de fenoles totales de *Bixa orellana* L. encontrado fue de  $144,77 \pm 9,66 \text{ mg}_{\text{AT.g}^{-1}}$  (10).

Para flavonoides morfotipo 9 con 86,473 mg/100g, morfotipo 11 tiene 86,372 mg/100g, morfotipo 10 con 85,101 mg/100g y el morfotipo 7 con 84,080 mg/100g. Para antocianinas morfotipo 9,11,10 y 7 con 11,210; 4,724 mg/100g; 4,341 mg/100g y 4,123 mg/100g respectivamente. Para catequinas morfotipo 9,11,10 y 7 con 0,018; 0,017 mg/100g; 0,005 mg/100g y 0,004 mg/100g respectivamente.

Con respecto a los valores obtenidos de alcaloides, los morfotipos 9,11,10 y 7 presentan 45,82 mg/100g, 44,94 mg/100g, 39,72 mg/100g y 39,04 mg/100g respectivamente, siendo estos valores los más altos; y, para saponinas los morfotipos 9,11,10 y 7 presentan 577,741 mg/100g, 567,654 mg/100g, 549,561 mg/100g y 514,583 mg/100g contienen valores más altos en comparación con los otros morfotipos.

Asimismo, nuestros resultados guardan una correlación con lo encontrado con **Padró, L. *et al.* (2016)** en su estudio "Caracterización preliminar de tinturas al 10% de *Bixa orellana* L. en cuanto a sus resultados de

composición química cualitativa, evidenciaron la presencia de alcaloides (++) , saponinas (++) , azúcares reductores (++) , flavonoides (++) , triterpenos y esteroides (++) , aminas y aminoácidos (++) , fenoles y taninos (+) , no identificándose resinas, quinonas, mucílagos y glucósidos cardíacos (12).



## CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

- De los once morfotipos estudiados, existen cuatro morfotipos con valores máximos en cuanto al contenido de polifenoles totales, flavonoides, antocianinas, catequinas, alcaloides y saponinas; estos son los morfotipos 9,11,10 y 7 respectivamente, siendo estos valores responsables que intervienen en interacciones complejas de la especie vegetal *B. orellana* L. y el medio.
- Las hojas de los once morfotipos de *B. orellana* L. (achiote) presentan un buen contenido de fenoles totales y alcaloides, las mismas que son responsables de la actividad antidiarreica, actividad antiinflamatoria y entre otras.

## CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

- En relación a los once morfotipos de *B. orellana* L., se debe continuar con estudios de componentes químicos mediante cromatografía de gases (GC-FID) y cromatografía de gases-espectrometría de masas (GC-MS), infrarrojo (IR), cromatografía de columna.
- Realizar estudios, en relación a su actividad citotóxica, antiinflamatoria, porque de esta forma se estará contribuyendo a otros campos de la investigación científica; dando un mayor realce con valor agregado al desarrollo sostenible.

## CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

- 1 Pamo Reyna OG. Características de los trabajos publicados sobre las propiedades de las plantas en revistas médicas peruanas. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2009; 26(3): p. 314-323.
- 2 Instituto Nacional de Salud. web.ins.gob.pe. [Online].; 2010. Acceso 4 de abril de 2021. Disponible en: [https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/censi/Achiote\\_Vademecum.pdf](https://web.ins.gob.pe/sites/default/files/Archivos/censi/Achiote_Vademecum.pdf).
- 3 Aguilar González DI. Determinación de Actividades biológicas y tamiz fitoquímico de Bixa Orellana L. de la Península de Yucatán. Tesis de pregrado. Sonora: Universidad de Sonora.
- 4 Huamán O, Sandoval M, Arnao I, Béjar E. Efecto antiulceroso del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de Bixa orellana (achiote), en ratas. An Fac med. 2009;: p. 97-102.
- 5 Vaca Altamirano , Quispillo Moyota M, Tubon Usca IR, Viteri Rodríguez A. Identificación de metabolitos secundarios y evaluación de la actividad antimicrobiana del extracto etanólico de Callistemon speciosus (escobillón rojo). AVFT. 2020; 39(2): p. 11-7.
- 6 Raddatz-Mota D, Pérez-Flores LJ, Carrari F, Insani M, Asis R, Mendoza-Espinoza JA, et al. Chemical characterization and quantification of the pigment extraction yield of seven Mexican accessions of Bixa orellana. Revista Mexicana de Ingeniería Química. 2016; 15(3): p. 727-740.
- 7 de la Cruz Frías , Torres Rodríguez , Morales León Á, Hermosilla Espinosa , Hernández González. Identificación de metabolitos secundarios de Anredera vesicaria (Yuca hiedra). Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2016; 21(2): p. 215-222.
- 8 Giorgi Annamaria , De Marinis Prieto , Granelli Giusepi, Chiesa María, Panseri Sara. Secondary Metabolite Profile, Antioxidant Capacity,

- and Mosquito Repellent Activity of *Bixa orellana* from Brazilian Amazon Region. *Journal of Chemistry*. 2013.
9. Naranjo Duran Ana María, Quintero Quiroz Julián, Ciro Gómez Gelmy. Optimización del proceso de lixiviación de los compuestos bioactivos de las semillas de *Bixa orellana* L. (annato). *Revista Cubana de plantas medicinales*. 2017; 22(4).
  10. Sepúlveda Rincón Cindy Tatiana, Ciro Gómez Gelmy Luz, Zapata Montoya José Edgar. Extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de hojas de *Bixa orellana* L. (achiote). *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2016;21(2):133-144.
  11. Ayala Jara Carmen Isolina, Castillo Saavedra Ericson Felix, Alfaro Avalos Katterine Yudit, Aspiros Freyre Eva del Pilar, Seclén Ayala Luis Ernesto. Colorante natural de las semillas de *Bixa orellana* L. (Bixaceae) como alternativa para uso cosmético. *Arnaldoa* 2016; 23(1):149-158.
  12. Padró-Rodríguez Lourdes, López-González Tania, Nuviola-Frómata Danelis. Caracterización preliminar de tinturas al 10 % de *Bixa orellana* L. *Rev. Cubana Quím.* 2017; 29(1):103-114.
  13. Freshney RI. *Culture of Animal Cells, A Manual of Basic Technique*. Ed. Wiley-Liss: Nueva York, 2000. pp. 101, 182, 309
  14. Cytel-Rivaplamed. *Métodos farmacológicos para la validación de plantas medicinales*. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo; 2001; pág. 65-69.
  15. Giuliano G, Rosati C, Bramley PM. To dye or not to dye: biochemistry of annatto unveiled. *TRENDS in Biotechnology*. 2003;21(12):513-6.
  16. Nalvarte Armas W, Jong W, Dominguez torrejón J. *Plantas amazónicas de uso medicinal, diagnóstico de un sector económico con un potencial de realización*, Ciefor y Universidad Nacional Agraria la Molina Lima Perú, 1999.
  17. Biltencourt C; Felicissimo MP, Pireaux J-J, Houssiau L ToF-SIMS Characterization of thermal modifications of bixin from *Bixa orellana* fruit. *J Agric Food Chem*. 2005;53 (16):6195-200.

18. Pérez L., Hetzel de la Cruz L., Martínez G. La *Bixa orellana* L. en el tratamiento de afecciones estomatológicas, un tema aún por estudiar. Revista Cubana de Farmacia. Rev Cubana Farm v.44 n.2 Ciudad de la Habana abr.-jun. 2010 Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-75152010000200012](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152010000200012) Fecha de acceso: 25 Mayo 2019.
19. Bautista A; Moreira ELT, Batista MS. Miranda MS. Subacute toxicity assessment of annatto in rat. Food Chem Toxicol. 2004; 42(4):625-9.
20. Levy L, Regalado E, Navarrete S, Watkins RH. Bixin and norbixin in human plasma: determination and study of the absorption of a single dose of Annatto food color. Analyst.1997.
21. Casado Martín CM, Gutiérrez Gaiten Y. Miranda Martínez M. Bilbao Revoredo O, Diaz San Miguel M, Mena I. Diseño y desarrollo de una formulación con *Bixa orellana* L. como revelador de placa dentobacteriana. 2009; 8 (4), 258-265.
22. Ávalos A, Pérez-Urria E. Metabolismo secundario de las plantas. Rev. RE. 2009; 2(3),119-145.
23. Valls J, Lampreave M, Nadal M, Arola L. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. Rev. Alimentación, Equipos. y Tecnología. Artículo consultado en el 2013. Pag. 1-6.
24. Camacho C. (2009). Compuestos fenólicos y el medio ambiente. Facultad de Agronomía. Centro de Tecnología Enzimática (CETENZ). Universidad de Matanzas "Camilo Cienfuegos". Cuba. Pag 1-30.
25. Peñarrieta J, Tejeda L, Mollinedo P, Vila J, Bravo J. Phenolic compounds in food. Rev. Boliviana de Química. 2014; 31(2), 68-81.
26. Sotero V, Maco M, Vela J, Merino C, Dávila E, García D. Evaluación de la actividad antioxidante y compuestos fenólicos en pulpa y semillas de cuatro frutales amazónicos de la familia Sterculiaceae. Rev Soc Quím Perú. 2011; 77(1).
27. Suhagia B, Rathod I, Sindhu S. *Sapindus mukorossi* (Areetha): an overview. IJPSR. 2011;2(8):1905-913.

28. Shamsa F, Monsef H, Ghamooshi R, Verdian-rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Rev. Thai J. Pharm. Sci.* 2008; N°32, 17-20.
29. Skoog T, Eriksson P, Hoffstedt J, Rydén M, Hamsten A, Arner P. (2001) Tumour necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) polymorphisms –857C/A and –863C/A are associated with TNF- $\alpha$  secretion from human adipose tissue. *Diabetologia* 44: 654–655.
30. Rojas L, Jaramillo C, Lemus M. Métodos analíticos para la determinación de metabolitos secundarios. Ecuador: Universidad Técnica de Machala; 2015.
31. Valls J., Lampreave M., Nadal M., Arola L. Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Revista Alimentación, Equipos y Tecnología.* 19(2): 119-124. 2000
32. Shamsa F., Monsef H., Ghamooshi R., Verdian-Rizi M. Spectrophotometric determination of total alkaloids in some Iranian medicinal plants. *Thai J. Pharm. Sci.* 2008; N°32, 17-20.
33. García Lopez A, Pariachi Castro AG. Evaluación de la actividad antidiarreica del extracto acuoso de las hojas de achiote (*Bixa orellana*) en ratas albinas, cepa Holtzman. [Tesis de grado para optar el título de profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico]. Lima: Universidad Inca Garcilaso de la Vega (2018). Disponible en: [http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4128/Tesis\\_Garc%C3%ADa%20Lopez%2C%20Alan%20%20Pariachi%20Castro%2C%20Aidee%20Guiselia.PDF?sequence=2&isAllowed=y](http://repositorio.uigv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.11818/4128/Tesis_Garc%C3%ADa%20Lopez%2C%20Alan%20%20Pariachi%20Castro%2C%20Aidee%20Guiselia.PDF?sequence=2&isAllowed=y) Fecha de acceso: 14 Febrero 2021.

## ANEXOS

### Anexo 1. Constancia de certificación de la especie vegetal



UNAP

Centro de Investigación de  
Recursos Naturales  
Herbarium Amazonense — AMAZ

INSTITUCIÓN CIENTÍFICA NACIONAL DEPOSITARIA DE MATERIAL BIOLÓGICO  
CÓDIGO DE AUTORIZACIÓN AUT-ICND-2017-005

### CONSTANCIA N.º 14-2019-AMAZ-UNAP

El Coordinador del Herbarium Amazonense (AMAZ) del CIRNA, de La Universidad Nacional De La Amazonia Peruana

#### HACE CONSTAR:

Que, la muestra botánica presentada por **JORGE YSAAC VILLACREZ VALLEJO**, investigador de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana pertenece al proyecto titulado: "Obtención de morfotipos promisorios de *Bixa orellana* L. "achiote" en base a estudios integrados para la producción de colorantes y biomasa, Iquitos - Perú" ha sido **DETERMINADA** en este centro de investigación y enseñanza **Herbarium Amazonense-AMAZ-CIRNA-UNAP**, como se indica a continuación:

N°	CÓDIGO AMAZ	FAMILIA	ESPECIE	Nombre común
01	000129	BIXACEAE	<i>Bixa orellana</i> L.	"achiote"

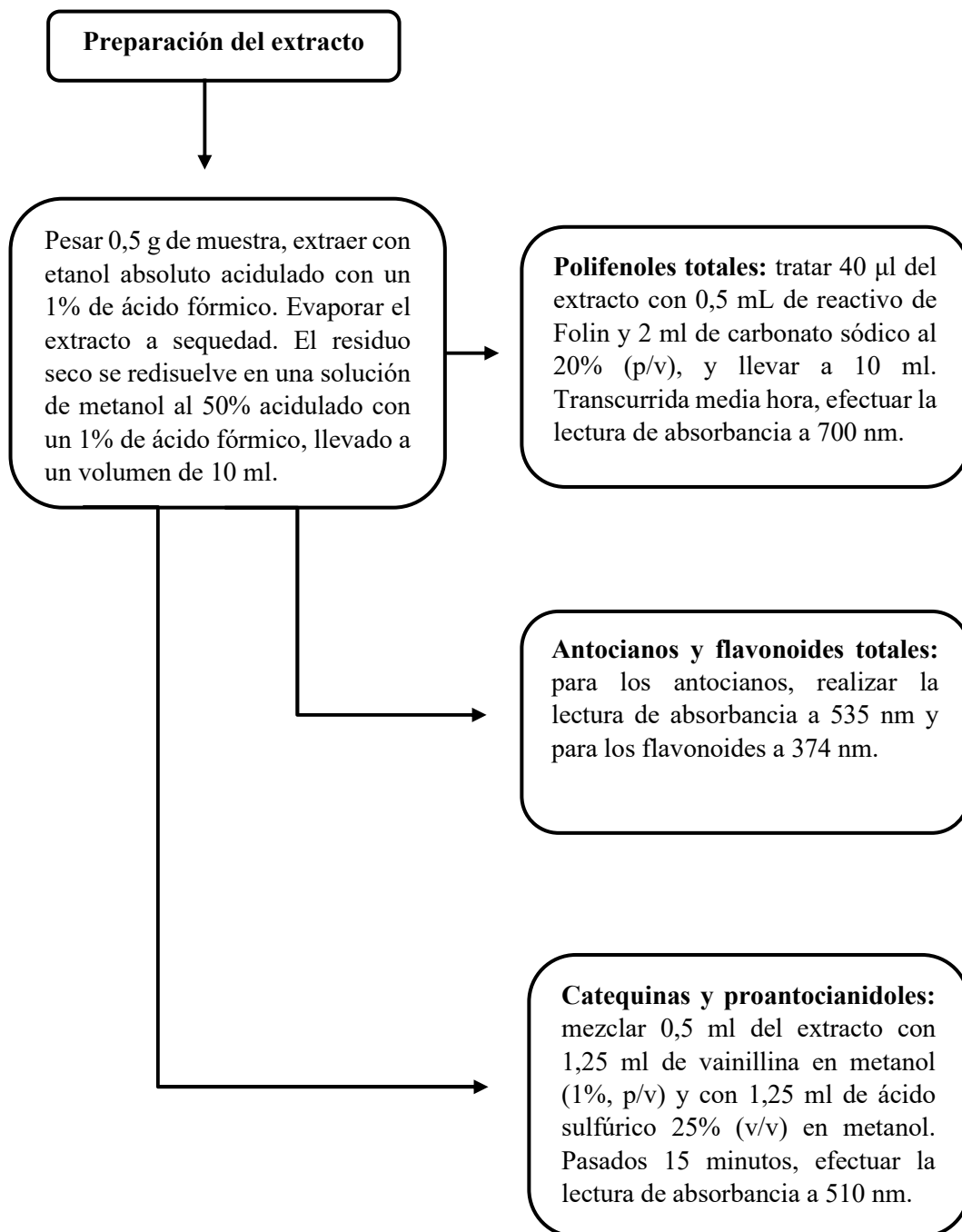
A los seis días del mes de junio del dos mil diecinueve, se expide la presente constancia al interesado para los fines que se estime conveniente.

Atentamente,

  
Blgo. Richard J. Huaranca Acóstupa M.Sc.  
Coordinador del Herbarium AMAZ  
CIRNA – UNAP

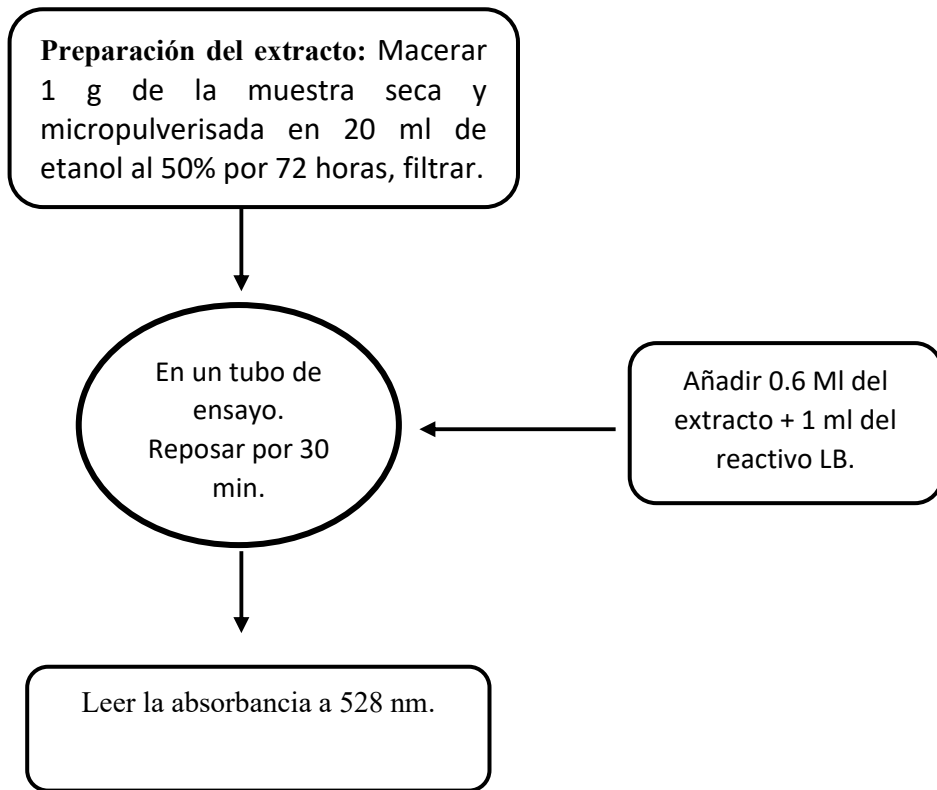


## Anexo 2. Flujograma de la cuantificación de compuestos fenólicos

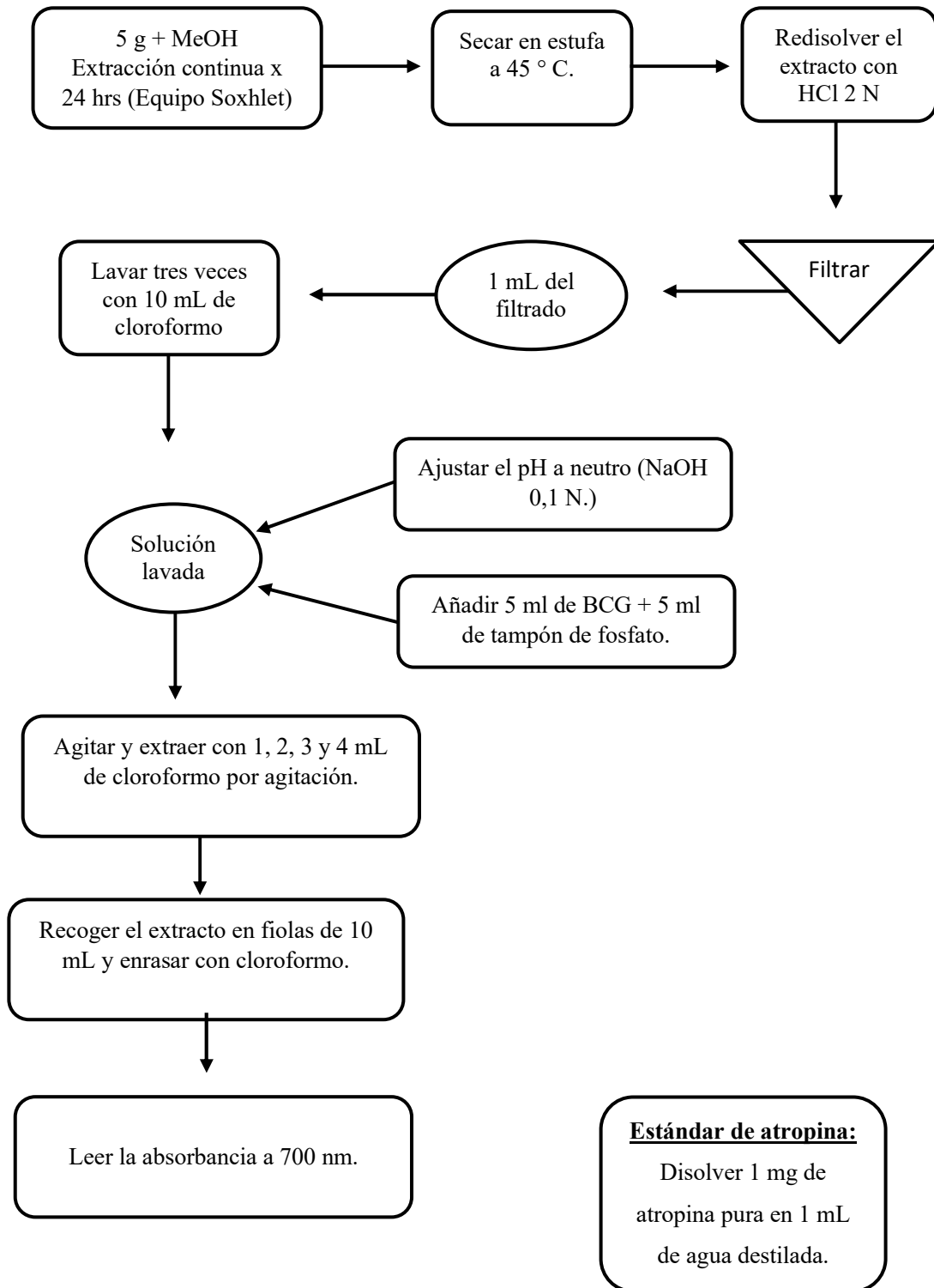







### Anexo 3. Flujograma de la cuantificación de saponinas



#### Anexo 4. Flujograma de la cuantificación de Alcaloides



**Anexo 5.** Clasificación de *Bixa orellana* L. en función a morfología y características de flores y frutos del arbusto

Morfotipo	Color de flores	Frutos: Color, forma, pubescencia y otros
01	Blancas	Amarillo verdoso claro débil, globosas, cónica, con abundante pubescencias cortas verdosas. MEDIDAS: Ancho : 3 cm Largo : 4.2 cm Pubescencia: 0.3 mm
		
02	Blancas	Verde claro débil, globosas, con abundante pubescencia largas verduscas. MEDIDAS: Ancho : 3 cm Largo : 5.8 cm Pubescencia: 0.6 mm
		
03	Blancas	Verde claro debil, de forma punta de lanza, con escasa pubescencia. MEDIDAS: Ancho : 3 cm Largo : 5.5 cm Pubescencia: 1 cm
		

- 04            Blancas           Verde claro fuerte, de forma punta de lanza, con escasa pubescencia y pequeños restos de órganos florales de forma curvada hacia el pedúnculo dispuestos en la base de los frutos.
- 
- 
- MEDIDAS:  
 Ancho : 3.5 cm  
 Largo : 6.5 cm  
 Pubescencia: 0.5 mm

- 05            Rosadas           Verde – Rojizas débil globosas achatadas en los costados, poca pubescencia.
- 
- 
- MEDIDAS:  
 Ancho : 2.3 cm  
 Largo : 6.4 cm  
 Pubescencia: 0.9 mm

- 06            Rosadas           Verde – Rojizas intensas, globosas achatadas en los costados, abundantes pubescencia cortas rojizas.
- 
- 
- MEDIDAS:  
 Ancho : 2.2 cm  
 Largo : 6 cm  
 Pubescencia: 0.5 mm

07 Rosadas Rojas intensas, globosas, abundante pubescencia.



MEDIDAS:

Ancho : 3.5 cm

Largo : 5 cm

Pubescencia: 1 cm



08 Rosadas Rojas intensas, globosas achatadas en los costados, abundantes pubescencias de color rojo intenso.



MEDIDAS:

Ancho : 3.5 cm

Largo : 6.5 cm

Pubescencia: 0.8 mm



09 Rosadas Rojas intensas, globosa achatada, abundante pubescencia.



MEDIDAS:

Ancho : 5.4cm

Largo : 8.8 cm

Pubescencia: 1 cm



10 violetas Rojizas intensas, curveada, poca pubescencia cortas rojizas.



MEDIDAS:

Ancho : 3.5 cm

Largo : 5.5 cm

Pubescencia: 0.5 mm



11

violetas

Lila, de forma punta de lanza, no tiene pubescencia.

Marrón oscuro

MEDIDAS:

Ancho : 3 cm

Largo : 6.7 cm

