



**UNIVERSIDAD  
MODELO**



**ESCUELA DE INGENIERÍA.**

**6° Semestre**

**Asignatura:** Biomateriales.

**Docente:** Ing. Carlos Eduardo Belman Flores.

**INGENIERÍA BIOMÉDICA.**

**Fase 1. Caracterización de extractos de Cola de zorro (*Heliotropium curassavicum*) y Achiote (*Bixa orellana*)**

**Realizado por:**

Caamal Vivas José Adrián, Carbot Edgar Andrea,  
Cecilio Escalante Sahirelly Guadalupe, Moreno Suárez  
Sebastián, Vázquez Salazar Erin.

**Mérida, Yucatán**

**20 de Mayo del 2024**

## **Introducción.**

Las plantas nos ofrecen una oportunidad insuperable para el descubrimiento de nuevos compuestos naturales con diversas actividades. En la región de Yucatán se encuentran innumerables especies vegetales y dentro de ellas se encuentra la planta *Bixa Orellana*, también conocida como Achiote, siendo utilizadas las hojas y consideradas como antiinflamatorio y antimicrobiano en la medicina tradicional, de la misma manera está la planta *Heliotropium curassavicum* también conocida como Cola de Zorro, presentándose como una hierba, en las dunas costeras de Yucatán, aplicándose en las úlceras cancerosas. Considerando que la Organización Mundial de la Salud (OMS) apoya el uso de las medicinas tradicionales y alternativas cuando éstas han demostrado su utilidad para el paciente y representan un riesgo mínimo. Las plantas de la duna costera y del manglar de la Península de Yucatán son fuente potencial de metabolitos contra hongos patógenos de cultivos de importancia económica.

Los métodos espectroscópicos basados en la transferencia de electrones, miden la capacidad de un antioxidante de reducir un agente oxidante, ocurriendo generalmente un cambio de color (el cambio de color es directamente proporcional a la concentración de los antioxidantes de la muestra) sobre el compuesto reducido, los casos más representativos son la pérdida de color de los ensayos realizados con el DPPH y el radical catión ABTS.

## **Objetivos.**

Obtener extractos vegetales (hidro y liposolubles) de *Heliotropium curassavicum* y de *Bixa orellana*, cuantificar metabolitos y realizar la caracterización de la actividad antioxidante mediante una prueba colorimétrica.

## **Marco teórico**

### **Extractos**

### **Características de las plantas y sus propiedades medicinales**

#### *Heliotropium Curassavium*

La planta es de uso medicinal, de hierbas halofitas, perennes y procuentes, proviene de la familia de los boraginaceae.

Su altura es alrededor de los 10 a 60 cm, con tallos gruesos de color verde azulado; hojas de color verde o verde azuladas; flores de color blanco, dando forma de alacran, por eso sus característicos nombres como cola de alacran, cola de zorro, etc. Sus frutos son pequeños y se dividen en 4 partes, de donde sale la flor blanca.

Contiene propiedades contra problemas del aparato digestivo, como diarrea, disentería e indigestión.

Usado como enfermedades venéreas, asma, fiebre, anemia, inflamación de los brazos y también como antídoto para picaduras de alacrán, ya que tiene propiedades antihelmínticas.

### *Bixa Orellana*

Pertenece a la familia Bixaceae, de origen náhuatl, sus frutos son ricos en carotenoides y flavonoides. Crece principalmente en América central, México y en zonas andinas. Esta planta puede medir de 4 a 5 metros, tiene grandes y vistosas flores. Los frutos tienen como nombre común el achiote, onoto, etc., tienen forma de cápsulas velludas que contienen alrededor de 10 a 60 semillas rojas.

Muchas de sus aplicaciones, ya sea en el campo alimentario, cosmético y con el paso del tiempo se han descubierto sus propiedades medicinales, como de expectorante, diurético, febrífugo, hepatoprotector, cicatrizante, astringente, hipoglucemiante y antiséptico. Sus propiedades tienen acción antioxidantes que ayudan a la piel; su contenido de bixina favorece al hígado para cumplir correctamente sus funciones. Tiene beneficios terapéuticos en la prostatitis, el diabetes, enfermedades cardiovasculares y enfermedades óseas.

### **Extracto vegetal**

Según la SADR (Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural) son preparados que se obtienen de la extracción de diferentes sustancias vegetales a partir de diversos procesos, como: maceración, fermentación, infusión, decocción y esencias. Los principales activos presentes en cada planta son complejos fitoquímicos (metabolitos secundarios), podemos encontrar gran variedad y diferentes concentraciones, por lo que sus beneficios son variados.

### **Los métodos para la obtención de extractos vegetales**

- a) *Maceración*: Consta de machacar la planta con los ingredientes, creando una mezcla homogénea; se agrega a la mezcla un litro de alcohol de 90°, dejándola reposar por 24 horas; se agrega a otro envase con 9 litros de agua y se esperan 15 días hasta que se separe la maceración y se pueda filtrar el extracto.
- b) *Fermentación*: Este método consta de triturar la planta, para luego agregarlo a una cubeta con 10 litros de agua, se revuelve hasta mezclar bien, dejándolo tapado, y reposando por cuatro días; luego del reposo, se vuelve a mezclar para reincorporar todo y volver a dejar reposando por cuatro días; por último se cuela y se procede a almacenar.
- c) *Decocción*: En una olla se agregan 10 litros de agua, añadiendo un kilogramo de la planta, dejando hervir durante 60 minutos; después del tiempo se deja reposar por 12 horas; pasado el reposo, la decocción se cuela y se almacena.

- d) *Infusión*: En una olla de acero inoxidable se pone a hervir un litro de agua, por separado se agrega la planta; cuando el agua esté hirviendo, se retira del fuego y se agrega la planta, removiendo con cuidado y dejándola reposar hasta que se enfríe; para terminar se almacena en un envase.
- e) *Esencia*: Se pican finamente la planta y se lavan perfectamente; en un recipiente de un litro se agregan 2 cuartas partes de alcohol 90°, una tercera parte de agua y por último se agrega en el restante de espacio toda la planta picada. Se cierra y se envuelve el recipiente con papel periodico, dejándolo reposar por un mes en un lugar fresco, seco y que no tenga contacto con luz solar; cuando pase el mes de reposo, se almacena en goteros o recipientes de plástico.

### **Metabolitos**

Los metabolitos son compuestos químicos sintetizados a partir de excedentes del metabolismo primario (Aminoácidos, carbohidratos, lípidos, ácidos nucleico), los metabolitos secundarios (como fenoles, terpenos, alcaloides) actúan como mediadores, los cuales intervienen en las funciones de la planta o de los organismos con los que interacciones, es decir, participan en las respuestas de muchas variables.

### **Actividad antioxidante**

Comúnmente son los flavonoides, los fenoles y los taninos. Las acciones antioxidantes dependen principalmente de su capacidad de reducir radicales libres y quemar metales, sin dejar las reacciones catalizadoras de los radicales libres.

### **Actividad antioxidante entre el metabolito y las células.**

El proceso antioxidante actúa controlando las cascadas de oxidación y protegiendo a las células contra daños oxidativos. Esta defensa puede actuar minimizando la producción de ERO (Especies reactivas de Oxígeno), que consta en defender contra el estrés, operativo y fisiología; Eliminación de ERO, que actúa como una segunda línea de defensa, a través de las acción de moléculas antioxidantes y de varias enzimas que interactúan directamente con ERO y regenerar la formas reducidas de las moléculas antioxidante.

## Antecedentes

Los extractos vegetales y la caracterización de su capacidad antioxidante, es una fuente fundamental de información y datos durante su estudio para comprender los compuestos bioactivos que estos presentan, son de gran interés por su amplio campo de aplicación en las diversas industrias, para analizar y comprender los beneficios y contradicciones que su aplicación pudiera causar.

### Artículos obtención de extractos de *Bixa Orellana* o *Ceratophyllum Demersum*

Publicado en 2007 por el Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marco en Lima, Perú “Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de *Bixa orellana* (achiote) en la secreción gástrica de ratas”, determina el efecto del extracto sobre los niveles de grupos sulfhidrilos no proteicos (GS-NP) utilizando el método de Sadlak y Lindsay, el moco gástrico utilizando un modelo de la ligadura pilórica, propuesta por Vissher y modificada por Sandoval y su producción según Corne, el pH fue dado por potenciómetro y acidez total de la secreción gástrica, obtenida por titulación con NaOH. Para la obtención del extracto fueron molidas las hojas de *Bixa orellana* y maceradas en una solución de etanol al 80% en una proporción de 1:10 con una agitación manual por 15 minutos al día por 15 días, posteriormente se filtró, se eliminó el etanol en la estufa a 40°C previo a su liofilización y se conservó en desecador a -4°C. Los resultados mostraron un incremento en la producción de GS-NP y moco gástrico sin inhibición de la acidez total. Huamán, O. (s. f.). *Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de Bixa orellana (achiote), en la secreción gástrica de ratas.*

En la publicación de 2020 “Extracción de antioxidantes de genotipos nativo de achiote (*Bixa Orellana* L.) y jitomate (*solanum lycopersicum* L.) mediante métodos no convencionales y determinación de su actividad funcional in vitro e in vivo” se estudia distintos métodos de obtención de extractos ricos en carotenoides y vitamina E de semillas de achiote nativos, con la finalidad de aprovechar como fuente de compuestos bioactivos pero utilizando métodos de extracción que disminuye el impacto ambiental generado por este tipo de procesos, se ensayaron solventes verdes biodegradables y seguros para usuarios y consumidores para reemplazar los solvente orgánicos comúnmente usados, se evaluó la funcionalidad de los extractos en el modelo de *Caenorhabditis elegans*. En los resultados se observó que la aplicación de sonicación por sonda es una herramienta que permite reducir el tiempo de extracción, la cantidad de solvente usado y la cantidad de energía necesaria en comparación con los métodos de maceración, extracción con equipo Soxhlet o sonicación en baño, siendo así la tecnología mas eficiente para la obtención del extracto, en los solventes verdes probados se destaca el acetato de isopropilo. Rafael, G. L. D. (2020, 1 marzo). *Extracción de antioxidantes de genotipos nativos de achiote (Bixa Orellana L.) y jitomate (Solanum lycopersicum L.) mediante métodos no convencionales y determinación de su actividad funcional in vitro e in vivo.*

“Ceratophyllum demersum a Free-floating Aquatic Plant” June 30, 2018 Ceratophyllum demersum es un macrófito perenne sumergido que normalmente crece con la base de su tallo enterrada en sustratos arenosos o limosos. Por lo general, se encuentra flotando en agua estancada y de movimiento lento. Es una planta frágil, que flota libremente bajo el agua, sin raíces, pero densamente frondosa, una vez al año o una planta aromática continua de agua dulce, con hojas tan apiñadas en los ápices que dan la impresión de una cola de animal tupida, que se reproduce vegetativamente y por semilla. Hornwort florece en aguas sombreadas, cálidas y que fluyen suavemente (1 cm por segundo) a un pH entre 7,6 y 8,8, pero no tolera la turbidez ni la salinidad. Esta planta oxigena el agua, proporciona alimento a los herbívoros acuáticos, y rara vez causa problemas. En el análisis de aceite volátil, extracto seco de planta entera por GC-MS, se detectaron 78 componentes. Los principales componentes extraídos fueron el contenido de acetona hexahidro Acacia (16,9%), los aldehídos y cetonas (21,44%), los terpenos (11,54%) y los ésteres de hidrocarburos (20.06%) y la otra categoría representó el 7,21%. Método de ensayo previo del sistema de composición química de Ceratophyllum demersum, se encontró que la planta contiene: flavonoides y glucósidos, lactonas, glucósidos cumarínicos, esteroides, terpenoides, azúcares, taninos, aminoácidos, péptidos, proteínas, aceite volátil; puede contener compuestos fenólicos, alcaloides; sin glucósidos cardíacos. La decocción de la hoja se utiliza como cardiotónico y para regular la secreción de bilis. El jugo de las hojas se utiliza para detener los vómitos y como agente refrescante. También se utiliza como antitóxico, analgésico, antiinflamatorio, astringente, antiulceroso, etc. Syed, I. B., Fatima, H., Mohammed, A. J., & Siddiqui, M. A. (2018). Ceratophyllum demersum a Free-floating Aquatic Plant: A Review. Indian Journal Of Pharmaceutical And Biological Research, 6(02), 10-17. <https://doi.org/10.30750/ijpbr.6.2.3>

## Artículos de actividad antioxidante en extractos vegetales

En el artículo publicado en 2018, “Evaluación de la actividad antioxidante de extractos medicinales de *Ceratophyllum Demersum* L. propagados in vitro”, se presenta el estudio de actividad antioxidante de extractos acuosos y metanólicos de *Ceratophyllum demersum* conocido como cola de zorro, cultivaron explantes de puntas de brotes de *C. demersum* para la regeneración de plantas in vitro en medio líquido Murashige y Skoog (MS) que contenía combinaciones de 0.25 a 1.25 mg/l de 6-bencilaminopurina (BAP) y 0.10 mg/l de thidiazuron (TDZ) durante ocho semanas, el número máximo de plántulas por explante (110,67) se obtuvo en medio MS suplementado con 0.75mg/l de BAP + 10 mg/l de TDZ para determinar las actividades antioxidantes se investigaron los contenidos de antioxidantes, las capacidades quelantes de metales y el poder reductor de los extractos de metanol y agua obtenidos. Se detectó que el extracto acuoso fue más efectivo en todas las actividades con componentes antioxidantes más altos, quelar iones ferrosos fue de 9.24 mg/ml, la actividad quelante y reductora de metal depende de su concentración, por lo tanto sugieren que ambos extractos ejercerán efectos beneficiosos en virtud de sus propiedades antioxidantes y podrían utilizarse como una fuente de terapias. Emsen, B. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante de extractos medicinales de Ceratophyllum demersum L. propagados in vitro.*

En “Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de *Bixa orellana* L. “achiote” y elaboración de una forma dermocosmética” de 2019 por la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, se determina con un enfoque experimental y prospectivo la actividad antioxidante in vitro y efecto fotoprotector in vivo de una crema dermocosmética, se preparó el extracto hidroalcohólico a partir de semillas frescas de achiote para la evaluación de su actividad antioxidante in vitro se usó la metodología del DPPH mientras que para la evaluación de su actividad fotoprotectora in vivo se trabajó con 35 ratas de 8 semanas de edad. En los resultados de la actividad antioxidante se obtuvo por el método de neutralización de radicales 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) una concentración inhibitoria media (IC50) de  $5.621 \times 10^3$  ug/ml del extracto e igual muestran que no posee un potencial antioxidante significativo. Iván, G. E. P. (2019). *Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de Bixa orellana L. “achiote” y elaboración de una forma dermocosmética.*

La utilización de Marco (*Ambrosia arborescens*) y Quishuar (*Buddleja incana*) por sus propiedades medicinales han sido la principal fuente de investigación. Los extractos acuosos, hidroalcohólicos (50:50) y etanólicos de las hojas se sometieron a pruebas in vitro para la determinación de las actividades biológicas antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica. La actividad antioxidante se basó en el método de quimioluminiscencia en el cuál el mejor tratamiento que presentó gran capacidad antioxidante fue el extracto (50:50) de Quishuar. La actividad antiinflamatoria se evaluó mediante el método de estabilización de membrana de los eritrocitos humanos, el extracto etanólico de Marco tuvo 88,57 por ciento de capacidad antiinflamatoria, en comparación con la aspirina, 87,66 por ciento. La capacidad citotóxica se determinó mediante el método

colorimétrico MTT (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-ilo)-2,5-difeniltetrazolio, sal de tetrazolio), utilizando células MCF-7. El extracto capaz de inducir a una apoptosis celular fue el extracto etanólico de Marco ya que en el ensayo se evidenció un índice de concentración inhibitoria máxima media (IC50) de 0,0043 lo que indica que con esa mínima cantidad la toxicidad del extracto fue letal en las células. Con los resultados obtenidos se afirma que el disolvente utilizado en la extracción de metabolitos secundarios incide en las actividades biológicas de las plantas. Moya Castillo, E. V. (2017). *Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los extractos vegetales de Marco (Ambrosia arboresces) y Quishuar (Buddleja incana), obtenidos mediante secado por aspersión*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería Bioquímica.

## **Metodología.**

Recolección de plantas.

Ubicación de la recolección de las plantas.

Achiote:

Cola de zorro:

El proceso de extracción de aceite esencial implica la separación de los compuestos volátiles de la materia vegetal utilizando un solvente adecuado, como puede ser agua, vapor de agua, hexano u otros solventes orgánicos. Hay varios métodos de extracción de aceite esencial, pero uno de los más comunes es la destilación por arrastre de vapor.

La elección del método para la obtención del extracto de los vegetales fue la de aceites esenciales. Este proceso es mediante la separación de los aceites esenciales de la hoja de la planta del Achiote fresco, el cual se toma una considerable cantidad de tiempo para su separación. La planta fresca se coloca dentro del sistema de destilación, por debajo del sistema se encuentra el agua que al entrar en evaporación, este consigue en extraer los aceites esenciales de la planta. Cuando queda solo el hexano junto con los aceites esenciales, se tiene que calentar para poder evaporar el líquido, quedando solamente el aceite. Una vez obtenido, el aceite esencial puede ser purificado y concentrado mediante técnicas adicionales, como la decantación, filtración o evaporación. El aceite esencial resultante contiene una concentración alta de compuestos volátiles que le otorgan el aroma y las propiedades características de la planta de origen. Con este contenido se trabajará los siguientes pasos sobre cuantificar metabolitos y realizar la caracterización de la actividad antioxidante mediante una prueba colorimétrica.

Materiales, equipos y reactivos a utilizar:

| <b>Cantidad</b> | <b>Material<br/>(Cristalería, accesorios, consumibles, ollas, sartenes, etc.)</b> |
|-----------------|---|
| 2               | Matraz de Erlenmayer de 50ml.   |
| 2               | Vaso precipitado de 50ml.   |
| 1               | Embudo de vidrio.   |
| 1               | sistema de destilación (columna, tapones y conectores)                            |
| 1               | Refrigerante de agua.   |
| 1               | Agitador de vidrio.   |
| 2               | Agitadores magnéticos.  |
| 1               | Celda de cuarzo para el espectrofotómetro.  |
| 3               | Pinzas de tres dedos con nuez   |
| 1               | Soxhlet   |
| 1               | Embudo de separación.   |
| 1               | Tapón horadado.   |
| 2               | Soportes universales.   |
| 4               | Filtro de papel de dedal.   |
| 1               | Recirculador de agua.   |
| 1               | Probeta de 10ml.  |
| 2               | Mangueras   |
| 1               | Cubeta  |
| 1               | Termómetro de -10 a 220°C.  |
| 1               | Matraz de destilación o matraz redondo de fondo plano (500-1000ml)                |
| 1               | Cuchillo  |
| 1               | Tabla para picar.   |
|                 | Guantes de látex o nitrilo.   |
|                 | Plumón indeleble.   |
|                 | Cinta masking o etiquetas.  |

| Cantidad | Equipos<br>(Balanza, potenciómetro, horno, vortex, licuadora, etc.) |
|----------|---|
| 1        | Parrilla de calentamiento.  |
| 1        | Espectrofotómetro.  |

| Cantidad<br>(g ó mL) | Reactivos<br>(Reactivos, soluciones, aditivos, etc.) |
|----------------------|--|
| 360ml                | Hexano.  |
| 200g-400g            | Muestra vegetal (hojas de achiote y cola de zorro).  |

### Procedimiento de la extracción del aceite esencial de las muestras (hidrosoluble).

1. Se realiza la elección de las hojas más frescas del racimo, en donde se lavan minuciosamente las muestras que se usarán sin dejar suciedad alguna de tierra o microorganismos que nos puedan afectar en las características de la planta, este proceso es para las dos plantas..



Imagen 1. Planta cola de zorro y achiote, respectivamente.



Imagen 2. Muestra de las hojas cortadas de la planta cola de zorro.

2. Con ayuda de un cuchillo picamos las hojas hasta obtener tamaños pequeños, pesando en la báscula la muestra considerando el gramaje exacto de las plantas, para las hojas de Achiote fueron 14.8gr y para las hojas de Cola de Zorro fueron 15gr.



Imagen 3. Pesaje de las plantas cola de zorro y achiote, respectivamente.



Imagen 4. Muestra depositada en el filtro.

3. Colocamos el material picado en un papel filtro, enrollando en forma de taquito la cantidad de las hojas de una planta, y lo acomodamos dentro del filtro de papel de dedal.

4. A continuación, se hace el armado del dispositivo del sistema de destilación Soxhlet, colocando el matraz de base plana redonda y con ayuda de un embudo de vidrio agregamos 182ml de Hexanol. En este punto, le añadimos 4 perlitas de evaporación, esto no altera las

características de la extracción de las muestras, esto evitará la formación de burbujas en el proceso de ebullición al ser calentado el Hexanol.

5. Mientras se coloca el matraz con Hexanol sobre la placa de agitación, configurando su temperatura a los 180°C. Se realiza la conexión del Soxhlet de la entrada de abajo hacia arriba.



Imagen 5. Medición del disolvente.

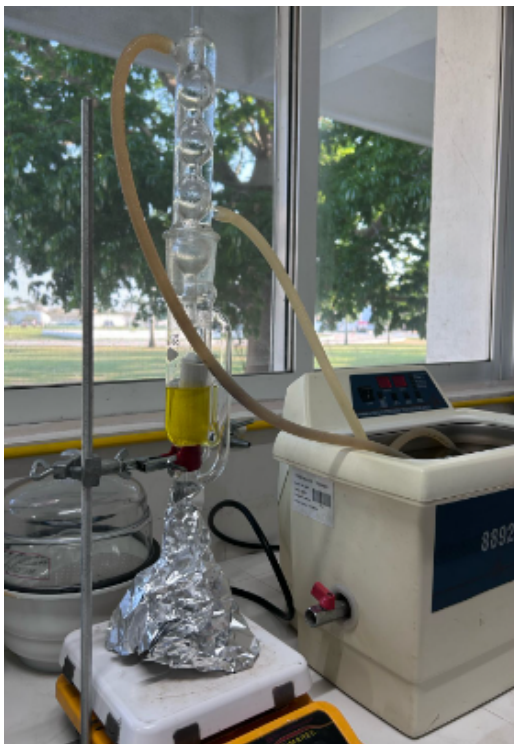


Imagen 6. Sistema de extracción Soxhlet.

6. Registramos el inicio del calentamiento de la placa a las 15:30 hrs, y la temperatura con la supervisión del equipo de trabajo.

7. A medida que se realizó el método de extracción, se observó la separación del aceite de la fase acuosa. se aprecia los dos lavados del aceite hasta extraer toda la muestra.

8. Al no observar más aceite en el condensado, se apagó la placa, dejamos enfriar el sistema durante 10 minutos. Transcurrido el tiempo se aflojaron las uniones del sistema de destilación y se dejó enfriar totalmente.

9. Vertimos el contenido a un vaso precipitado chico, tapamos con aluminio, conservando la muestra obtenida del aceite de esencia.



Imagen 7. Filtro después del lavado de la destilación.

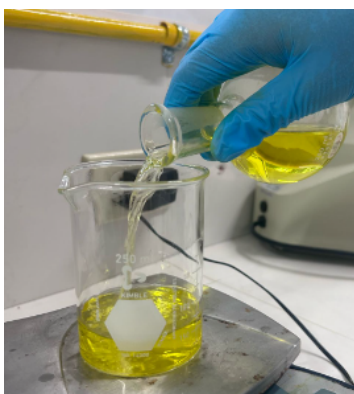


Imagen 8. Vaciado del extracto obtenido.

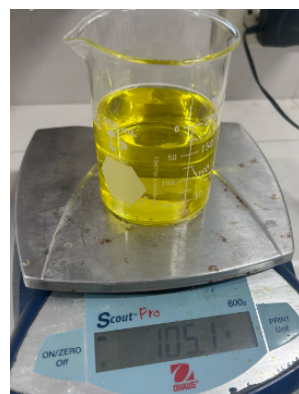


Imagen 9. Pesaje del extracto obtenido.

### **Procedimiento para la cuantificación de metabolitos, en ambos extractos.**

Por el método de la espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis).

1. Preparación de la muestra. La muestra de aceite esencial se disuelve en un solvente adecuado que sea transparente en el rango UV-Vis, como hexano. Es importante preparar la muestra de manera que no haya partículas sólidas o burbujas de aire que puedan interferir con las mediciones. el neutro solo con 3 ml de hexano (blanco), y las muestras son del puro concentrado, eso se lee en el espectro.



Imagen 10. Toma de muestra del extracto pipeteado.

2. El blanco se registra cada que se realice el cambio de una muestra a otra, se tomará el blanco antes de todo el proceso de cada una.
3. Realizamos 3 mediciones de 300, de 25 en 25, en donde observamos en el rango general en donde se visualiza el metabolito.
4. Seguidamente de 5 en 5, enfocando la longitud de onda.

5. Preparación de la curva de calibración. Se preparan soluciones estándar de los metabolitos de interés en el mismo solvente utilizado para la muestra. Estas soluciones estándar deben tener concentraciones conocidas de los metabolitos que se van a cuantificar. Se pueden preparar varias soluciones estándar con diferentes concentraciones para construir una curva de calibración.
6. Medición de la absorbancia. Se coloca la muestra de aceite esencial y las soluciones estándar en cubetas transparentes diseñadas para la espectroscopia UV-Vis. Estas cubetas se insertan en el espectrofotómetro UV-Vis. El espectrofotómetro emite luz en el rango UV-Vis a través de la muestra y mide la cantidad de luz absorbida por la muestra a diferentes longitudes de onda.
7. Selección de la longitud de onda. Se selecciona la longitud de onda específica en la que se sabe que los metabolitos de interés tienen una absorbancia máxima. Esta longitud de onda de las muestras de Cola de zorro, se puede visualizar un pico en la curvatura, analizando los resultados, nos enfocamos con tomas de 1 en 1, y repetimos las tomas para cuantificar los metabolitos que se presente en el extracto.
8. Construcción de la curva de calibración. Se registra la absorbancia de las soluciones estándar a la longitud de onda seleccionada. Con esta información, se construye una curva de calibración que relaciona la concentración conocida de los metabolitos con la absorbancia medida por el espectrofotómetro.
9. Cuantificación de los metabolitos en la muestra. Se mide la absorbancia de la muestra de aceite esencial a la misma longitud de onda y se utiliza la curva de calibración para determinar la concentración de los metabolitos en la muestra.

Tabla 1. Cuantificación de metabolitos Achioté.

| Planta 1. Achioté |                          |       |       |
|-------------------|--------------------------|-------|-------|
| Long de onda      | Muestras (100% Extracto) |       |       |
|                   | A                        | B     | C     |
| 325               | 2.692                    | 0.032 | 0.024 |
| 350               | 3.000                    | 0.029 | 0.026 |
| 375               | 3.000                    | 0.147 | 0.141 |
| 400               | 2.125                    | 0.000 | 0.000 |
| 425               | 0.795                    | 0.000 | 0.000 |
| 450               | 0.345                    | 0.000 | 0.000 |
| 475               | 0.000                    | 0.000 | 0.000 |
| 500               | 0.000                    | 0.000 | 0.000 |

|                |       |       |       |
|----------------|-------|-------|-------|
| 525            | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 550            | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 575            | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| 600            | 0.000 | 0.000 | 0.000 |
| Blanco (A)     | 0.000 | A     |       |
| 3ml de Hexanol |       |       |       |

| Planta 1. Achiote |                          |       |       |
|-------------------|--------------------------|-------|-------|
| Long de onda      | Muestras (100% Extracto) |       |       |
|                   | A                        | B     | C     |
| 325               | 0.011                    | 0.008 | 0.015 |
| 330               | 0.013                    | 0.010 | 0.017 |
| 335               | 0.013                    | 0.011 | 0.017 |
| 340               | 0.014                    | 0.010 | 0.018 |
| 345               | 0.014                    | 0.010 | 0.017 |
| 350               | 0.012                    | 0.009 | 0.016 |
| 355               | 0.004                    | 0.001 | 0.008 |
| 360               | 0.267                    | 0.258 | 0.268 |
| 365               | 0.239                    | 0.231 | 0.240 |
| 370               | 0.128                    | 0.186 | 0.196 |
| 375               | 0.075                    | 0.125 | 0.135 |
| 380               | 0.000                    | 0.002 | 0.011 |
| 385               | 0.000                    | 0.000 | 0.000 |

Imagen 11. Resultado de cuantificación de metabolitos de Achiote..

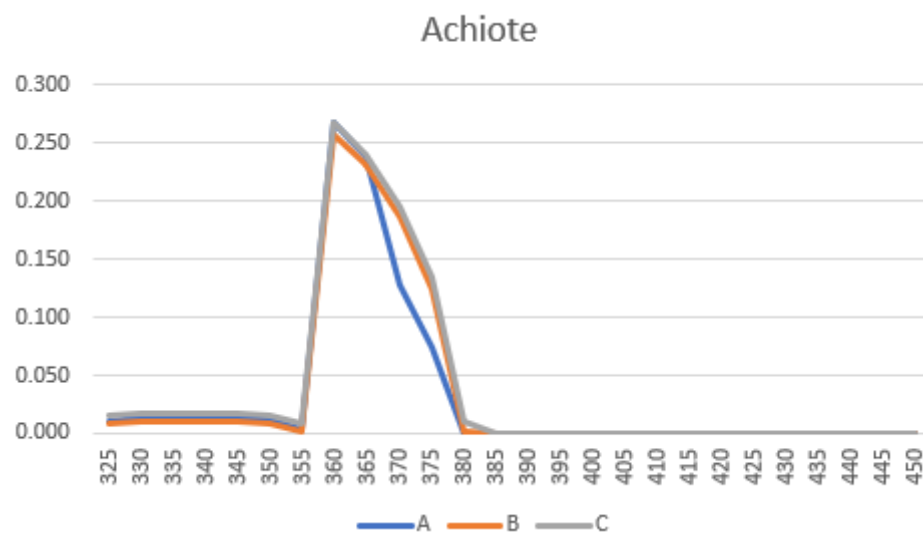


Imagen 12. Longitud de onda de los metabolitos de Achiote..

Tabla 2. Cuantificación de metabolitos Achiote.

| Planta 2. Cola de zorro |   |       |       |
|-------------------------|---|-------|-------|
|                         | Concentrado de Muestras (3 ml Extracto) |       |       |
| Long de onda            |   |       |       |
|                         | A                                       | B     | C     |
| 325                     | 0.014                                   | 0.611 | 0.014 |
| 350                     | 0.037                                   | 0.715 | 0.037 |
| 375                     | 0.182                                   | 0.182 | 0.182 |
| 400                     | 0.050                                   | 0.770 | 0.050 |
| 425                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 450                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 475                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 500                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 525                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 550                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 575                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| 600                     | 0.000                                   | 0.000 | 0.000 |
| Blanco (A)              | 0.000                                   | A     |       |
| 3ml de Hexano           |   |       |       |

| Planta 2. Cola de zorro 2.0 |                          |       |       |       |
|-----------------------------|--------------------------|-------|-------|-------|
| Long de onda                | Muestras (100% Extracto) |       |       |       |
|                             | A                        | B     | C     | D     |
| 370                         | 0.011                    | 0.006 | 0.005 | 0.010 |
| 371                         | 0.012                    | 0.009 | 0.006 | 0.013 |
| 372                         | 0.015                    | 0.011 | 0.008 | 0.014 |
| 373                         | 0.017                    | 0.012 | 0.010 | 0.016 |
| 374                         | 0.018                    | 0.014 | 0.012 | 0.017 |
| 375                         | 0.020                    | 0.015 | 0.012 | 0.018 |
| 376                         | 0.020                    | 0.015 | 0.013 | 0.018 |
| 377                         | 0.021                    | 0.016 | 0.013 | 0.019 |
| 378                         | 0.021                    | 0.017 | 0.013 | 0.020 |
| 379                         | 0.021                    | 0.015 | 0.013 | 0.018 |
| 380                         | 0.020                    | 0.016 | 0.013 | 0.017 |

Imagen 13. Resultado de cuantificación de metabolitos de Cola de Zorro..

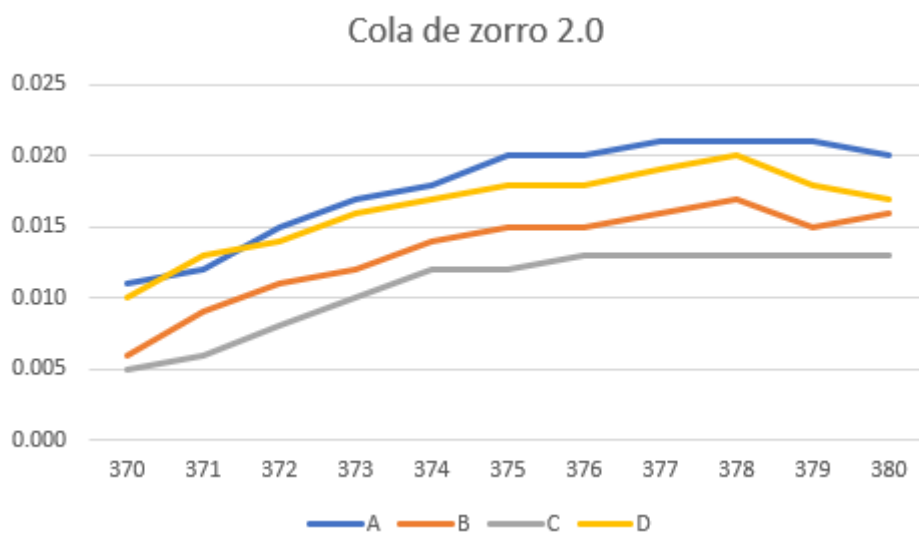


Imagen 14. Longitud de onda de los metabolitos de Cola de Zorro.



## Referencias.

- Emsen, B. (2018). *Evaluación de la actividad antioxidante de extractos medicinales de Ceratophyllum demersum L. propagados in vitro*.  
<https://bibliotekanauki.pl/articles/11887732>
- Huamán, O. (s. f.). *Efecto del extracto hidroalcohólico liofilizado de hojas de Bixa orellana (achiote), en la secreción gástrica de ratas*.  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832007000400005&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832007000400005&script=sci_arttext)
- Iván, G. E. P. (2019). *Actividad antioxidante in vitro y fotoprotectora in vivo del extracto hidroalcohólico de semillas de Bixa orellana L. "achiote" y elaboración de una forma dermocosmética*.  
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/11501>
- Rafael, G. L. D. (2020, 1 marzo). *Extracción de antioxidantes de genotipos nativos de achiote (Bixa Orellana L.) y jitomate (Solanum lycopersicum L.) mediante métodos no convencionales y determinación de su actividad funcional in vitro e in vivo*. UAM. <https://bindani.izt.uam.mx/concern/tesiuams/fq977t89c>
- Syed, I. B., Fatima, H., Mohammed, A. J., & Siddiqui, M. A. (2018). *Ceratophyllum demersum a Free-floating Aquatic Plant: A Review*. *Indian Journal Of Pharmaceutical And Biological Research*, 6(02), 10-17.  
<https://doi.org/10.30750/ijpbr.6.2.3>
- Moya Castillo, E. V. (2017). *Evaluación de la actividad antioxidante, antiinflamatoria y citotóxica in vitro de los extractos vegetales de Marco (Ambrosia arboresces) y Quishuar (Buddleja incana), obtenidos mediante secado por aspersión*. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Carrera de Ingeniería Bioquímica.

<https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/26010>

:: *Términos - Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana* :: Biblioteca

*Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.* (s. f.).

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=>

[heliotropium-curassavicum](http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/apmtm/termino.php?l=3&t=heliotropium-curassavicum)

CYD. (s. f.). <https://www.cyd.conacyt.gob.mx/?p=articulo&id=227#>

De Información Agroalimentaria y Pesquera, S. (s. f.). *Achiote: principal productor de*

*Bixina.* [gob.mx.](https://www.gob.mx/siap/articulos/achiote-principal-productor-de-bixina?idiom=gob.mx)

<https://www.gob.mx/siap/articulos/achiote-principal-productor-de-bixina?idiom=es#:~:text=El%20achiote%20%C3%B3%20Bixa%20Orellana,este%20%C3%BAltimo%20de%20origen%20n%C3%A1huatl>.

Del R Peralta-Pérez, M. (s. f.). *La defensa antioxidante en las plantas: Una herramienta*

*clave para la fitorremediación.*

[https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1665-27382012000100006](https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382012000100006)

Eva, G. C. (2004, 1 junio). *Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la*

*salud.* Offarm.

<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-compuestos-fenolicos-un-analisis-sus-13063508>

Pérez. (2021, 14 diciembre). *¿Qué es el achiote y qué propiedades tiene?* Blog Mentta |.

<https://www.mentta.com/blog/propiedades-del-achiote/>

SADR, INAFAP, & Producción para el Bienestar. (2022). *Elaboracion de extractos*

*vegetales [Conjunto de datos]. En Estrategia de Acompañamiento Técnico.*

[https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/737322/10\\_Extractos\\_vegetales.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/737322/10_Extractos_vegetales.pdf)

Tránsito, L. L. M. (2002, 1 abril). *Flavonoides*. Offarm.

<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-flavonoides-13028951>