

AUTORIZACIÓN Y DECLARACIÓN JURADA DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

Yo, Pérez Caballero, Myrna Cathy, con DNI 09152379, en mi condición de autor(a) de la tesis/ trabajo de investigación/ trabajo académico presentada para optar el Título Profesional de "Químico Farmacéutico", AUTORIZO a la Universidad María Auxiliadora (UMA) para reproducir y publicar de manera permanente e indefinida en su repositorio institucional, bajo la modalidad de acceso abierto, el archivo digital que estoy entregando, en cumplimiento a la Ley N°30035 que regula el Repositorio Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación de acceso abierto y su respectivo Reglamento.

Asimismo, DECLARO BAJO JURAMENTO¹ que dicho documento es ORIGINAL con un porcentaje de similitud de 10 % y que se han respetado los derechos de autor en la elaboración del mismo. Además, recalcar que se está entregado la versión final del documento sustentado y aprobado por el jurado evaluador.

En señal de conformidad con lo autorizado y declarado, firmo el presente documento a los 03 días del mes de noviembre del año 2022.



Pérez Caballero, Myrna Cathy
09152379



Mg. Gerson Cordova Serrano
45276376

¹ Se emite la presente declaración en virtud de lo dispuesto en el artículo 8°, numeral 8.2, tercer párrafo, del Reglamento del Registro Nacional de Trabajos conducentes a Grados y Títulos – RENATI, aprobado mediante Resolución de Consejo Directivo N° 033-2016-SUNEDU/CD, modificado por Resolución de Consejo Directivo N° 174-2019-SUNEDU/CD y Resolución de Consejo Directivo N° 084-2022-SUNEDU/CD.

APlagio PEREZ CABALLERO, MYRNA-TESIS (2) - copia

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%	11%	0%	3%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uma.edu.pe Fuente de Internet	4%
2	www.spacosmetic.com Fuente de Internet	2%
3	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	1%
4	www.elsevier.es Fuente de Internet	1%
5	repositorio.unsch.edu.pe Fuente de Internet	1%
6	repositorio.unan.edu.ni Fuente de Internet	1%
7	Submitted to Universidad Nacional Abierta y a Distancia, UNAD,UNAD Trabajo del estudiante	1%



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**ANÁLISIS FARMACOGNÓSTICO DIFERENCIAL DE LAS
HOJAS Y TALLOS DE LA ESPECIE *Melissa officinalis*
(TORONJIL) Y ELABORACIÓN DE UNA CREMA TÓPICA
CON *Aloe vera* (SÁBILA), 2021**

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

AUTORA:

Bach. PÉREZ CABALLERO, MYRNA CATHY

<https://orcid.org/0000-0002-0777-256X>

ASESOR:

MSc. CÓRDOVA SERRANO, GERSON

<https://orcid.org/0000-0002-5591-0322>

LIMA – PERÚ

2022

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis está dedicado a mi familia, conformada por mi esposo y tres hijos, quienes a pesar de las dificultades me han dado aliento para continuar estudiando pese a ciertas dificultades que se presentaron a lo largo de estos cinco años desde que comencé la universidad.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis compañeros y amigos que he conocido desde el comienzo de la carrera, quienes me han compartido sus experiencias vividas y a Dios, por haberme proporcionado salud, tanto a mí como a mi familia, en este momento de pandemia.

ÍNDICE

I. INTRODUCCION	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS	5
2.1 Enfoque y diseño de la investigación.....	5
2.2 Población, muestra y muestreo.....	5
2.3 Variable de la investigación.....	5
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	7
2.5 Plan de recolección de datos.....	7
2.5.1 Recolección, selección e identificación de muestra.....	7
2.5.2 Preparación de la muestra.....	8
2.5.3 Aspectos fisicoquímicos de las hojas y tallos.....	9
2.5.3.1 Humedad.....	9
2.5.3.2 Determinación de pH.....	9
2.5.3.3 Porcentaje de rendimiento.....	9
2.5.3.4 Porcentaje de cenizas totales.....	10
2.5.3.5 Pruebas de solubilidad.....	10
2.5.4 Aspectos fisicoquímicos del preparado semisólido	11
2.5.4.1 Análisis organoléptico	11
2.5.4.2 pH.....	11
2.5.4.3 Estabilidad térmica.....	11
2.5.4.4 Contenido volátil.....	11
2.5.4.5 Extensibilidad	11
2.5.5 Ensayos fitoquímicos cualitativos de las partes vegetales.....	12
2.5.5.1 Dragendorff (alcaloides).....	12
2.5.5.2 Liebermann-Bouchard (triterpenos y/o esteroides).....	12
2.5.5.3 Espuma (saponinas).....	12
2.5.5.4 Borntrager (quinonas, naftoquinonas y antraquinonas).....	13
2.5.5.5 Baljet (lactonas α , β insaturadas, cumarinas).....	13
2.5.5.6 Reacción con cloruro férrico (taninos).....	13
2.5.5.7 Shinoda (flavonoides).....	13
2.5.5.8 Fehling A y B (azúcares reductores).....	13
2.5.5.9 Sudán (aceites esenciales y grasas).....	13
2.5.5.10 Ninhidrina (aminoácidos).....	14
2.5.5.11 Hidróxido de sodio 10% (antocianinas).....	14

2.7 Aspectos éticos.....	20
III. RESULTADOS	21
3.1 Aspectos fisicoquímicos de los extractos hidroalcohólicos al 96° de los hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i>	21
3.1.1 Humedad de las hojas y tallos frescos de toronjil.....	21
3.1.2 pH de los extractos hidroalcohólicos	21
3.1.3 Rendimiento de extracción de los macerados de hojas y tallos	22
3.1.4 Cantidad de cenizas de muestras frescas de hojas y tallos.....	22
3.1.5 Solubilidad extractos secos de hojas y tallos.....	23
3.2 Aspectos fisicoquímicos de la crema	23
3.2.1 Análisis organoléptico	23
3.2.2 pH.....	23
3.2.3 Estabilidad térmica.....	24
3.2.4 Dispersión	24
3.2.4 Contenido volátil.....	24
3.2.5 Extensibilidad	25
3.3 Aspectos fitoquímicos de los extractos hidroalcohólicos.....	25
IV. DISCUSIÓN.....	26
4.1 Discusión de resultados	26
4.2 Conclusiones	29
4.3 Recomendaciones	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Solventes usados para las pruebas de solubilidad (desde el más polar al menos polar).....	11
Tabla N° 2. Insumos para la elaboración de la crema de <i>Melissa officinalis</i> (toronjil) a las concentraciones de 5%,10% y 20% y <i>Aloe vera</i> 5%.....	14
Tabla N° 3. Insumo para la elaboración del mucilago de <i>Aloe vera</i> (sábila) 5%.....	15
Tabla N° 4. <i>Determinación de humedad de hojas y tallos frescos de Melissa officinalis</i>	21
Tabla N° 5. <i>pH de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de Melissa officinalis</i>	21
Tabla N° 6. Porcentaje de rendimiento de los extractos hidroalcohólicos al 96° de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i>	22
Tabla N° 7. Cenizas totales de muestras frescas de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i>	22.
Tabla N° 8. Solubilidad de muestras secas de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i>	23
Tabla N° 9. Análisis organoléptico de las cremas de <i>Melissa officinalis</i> y <i>Aloe vera</i>	23
Tabla N° 10. pH de las cremas de <i>Melissa officinalis</i> y <i>Aloe vera</i>	23
Tabla N° 11. Condiciones para determinar la compatibilidad de <i>Melissa officinalis</i> en condiciones de ciclaje.....	24
Tabla N° 12. Clasificación del producto de acuerdo al diámetro de dispersión.....	24

Tabla N° 13. Contenido volátil de las cremas de <i>Melissa officinalis</i> y <i>Aloe vera</i>.....	24
Tabla N° 14. Extensibilidad de las cremas de <i>Melissa officinalis</i> y <i>Aloe vera</i>.....	25
Tabla N° 15. Constituyentes fitoquímicos de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i>.....	25

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: Operacionalización Análisis Farmacognóstico	35
ANEXO B: Instrumentos de recolección de datos	39
ANEXO C: Certificado de identificación botánica	40
ANEXO D: Evidencia de la ejecución del trabajo de investigación	41

RESUMEN

Melissa officinalis, de nombre común toronjil, es una planta herbácea originaria del sureste europeo, Asia menor, África del sur y América. El objetivo fue realizar un análisis farmacognóstico diferencial de las hojas y tallos de la especie *Melissa officinalis* (toronjil) y elaborar una crema a base de la especie estudiada. Se usaron muestras provenientes del mercado "Santa Rosa", distrito del Callao, provincia del mismo nombre. Se procedió a secar a temperatura ambiente las hojas y tallos. Luego, se separó muestra para realizar la determinación de humedad y el análisis de cenizas; a lo que sobró se procedió a macerar en etanol para después calcular el rendimiento, pH, solubilidad y marcha fitoquímica; se formuló una crema con la especie estudiada. Resultados: los tallos tuvieron más humedad y pH; en el rendimiento de extracción y cantidad de cenizas las hojas tuvieron mayores valores; la solubilidad en solventes polares como apolares fue similar y en el tamizaje fitoquímico se detectó que los tallos tienen mayor cantidad de compuestos químicos en comparación con las hojas. Finalmente se llevó a cabo la preparación de la crema tópica.

Palabras clave: *Melissa officinalis*, toronjil, humedad, pH, cenizas, marcha fitoquímica.

ABSTRACT

Melissa officinalis, commonly known as lemon balm, is a herbaceous plant native to southeastern Europe, Asia Minor, South Africa and America. The objective was to carry out a differential pharmacognostic analysis of the leaves and stems of the species *Melissa officinalis* (lemon balm) and to prepare a cream based on the species studied. Samples from the "Santa Rosa" market, district of Callao, province of the same name, were used. The leaves and stems were dried at room temperature. Then, a sample was separated to determine humidity and ash analysis; what was left over was macerated in ethanol to later calculate the yield, pH, solubility and phytochemical performance; a cream was formulated with the studied species. Results: the stems had more humidity and pH; in the extraction yield and quantity of ashes, the leaves had higher values; the solubility in polar and non-polar solvents was similar and in the phytochemical screening it was detected that the stems have a greater amount of chemical compounds compared to the leaves. Finally, the preparation of the topical cream was carried out.

Key words: *Melissa officinalis*, lemon balm, moisture, pH, ash, phytochemical march.

I. INTRODUCCION

A través de diversas partes de las plantas, los recursos vegetales han sido usados por la humanidad para alimentarse y curar patologías (1). Esto desarrolló disciplinas como la farmacia, farmacología, farmacognosia y la actual medicina (2). Además, se estima que en muchos países en vías de desarrollo gran parte de la población satisface sus necesidades de atención primaria en médicos y plantas tradicionales. Por eso, la medicina a base herbal ha mantenido su popularidad a pesar de existir la medicina formal (3).

Con la llegada de la ciencia y tecnología, se fue descubriendo que las propiedades etnofarmacológicas como: antihipertensivas, antisépticas, antiparasitarias, cicatrizantes e hipoglucemiantes, entre otras, se deben a moléculas biológicas presentes llamadas metabolitos secundarios (4), los cuales pueden ser detectados por pruebas fisicoquímicas al formarse precipitados o cambios de color (5). Por otro lado, estos metabolitos protegen a las plantas de microorganismos, constituyendo así una defensa química. Además, estos son diversos: cada especie de planta no alberga los mismos tipos de componentes (6).

A nivel mundial, existen 107 ecoregiones, de las cuales 84 se encuentran en nuestro país, albergando con ello 7% de plantas diversas del planeta. Asimismo, Perú es el primer país con especies nativas domésticas y el quinto en el mundo en plantas usadas y conocidas (7), dando lugar a 1400 especies de plantas con uso medicinal, de las cuales se calcula que un 40% no han sido estudiadas. A pesar que muchas personas recurren a la medicina natural, no se provecha totalmente los beneficios de estas plantas. Es por eso que la investigación resulta importante debido a que se van descubriendo nuevas propiedades de la inmensa diversidad de especies. A un nivel más específico, la familia *Lamiaceae* o también llamada labiada, abarca 245 géneros y aproximadamente 7900 especies admitidas, la cual la convierte en uno de los mayores grupos del reino vegetal. En el género destacan el *ocimun*, *salvia*, *rosmarinus*, *lavandulo* y *thymus* (8). No sin menor importancia, *Melissa officinalis* (toronjil), ha sido considerada como cimiento de investigación.

El toronjil es nativa de la región mediterránea, en el sureste europeo, como también en Asia menor, África del sur y América (9), pudiendo ser encontrado con en países templados. Por otra parte, los preparados a través de té o infusiones de esta especie son contraindicados en embarazadas, ya que al tener ácido oleanólico estimula la contracción del útero; sin embargo, el consumo de esta es analgésica, desinfectante y cicatrizante, además de facilitar la conciliación del sueño (10). En lo que a la química concierne, destacan su aceite esencial, flavonoides y ácidos fenilcarboxílicos. En el primero, está en pelos glandulosos en una concentración menor al 0,3 % y este valor puede cambiar según la época de cosecha (11) y son responsables de su fragancia (12). Asimismo, comprende alcohol, geraniol y limoneno. En el caso de flavonoides, destacan la luteonina y quercetol. Finalmente, los ácidos cafeico, clorogénico y rosmarínico sobresalen como ácidos fenilcarboxílicos (13).

Las cremas son preparados farmacéuticos, semisólidos con un máximo de agua de 80%, que además se constituyen con grasas, resinas y otras sustancias (fase acuosa y fase oleosa). Ellas varían según el tipo de piel para su formulación, las más densas y nutritivas son para todo tipo de piel, las que tienen más agua que aceites son más suaves para pieles grasas. Para preparar una, primero se calienta la fase oleosa a una temperatura mínima e igual al punto de fusión de uno de los componentes, mientras se le agita. Por otro lado, se repite el proceso con la fase acuosa, también con agitación. Luego, la fase acuosa se adiciona a la oleosa y cuando la temperatura sea menor a 35° C, se adiciona el principio activo, para asegurar que no se volatilice el principio activo, a la que podremos añadir principios activos, extractos de plantas o aceites esenciales para dotar a nuestras cremas de propiedades beneficiosas para nuestra piel como es el caso de la dermatitis e infecciones cutáneas, en el presente trabajo de investigación la crema formulada tiene como propiedad principal ser cicatrizante (14).

Carocho *et al.*, (2015) realizaron una caracterización química de la decocción de *M. officinalis*, abarcando actividades antitumorales, antioxidantes y antibacteriales en Portugal. Los componentes fenólicos más abundantes fueron los ácidos litospérmicos y rosmarínico. Actividad contra *P. aeruginosa*, *S. typhimurium* entre otros fue activa. Además observaron inhibición en el crecimiento de diferentes células tumorales (15).

Gallardo., (2015) determinó el efecto antioxidante y ansiolítico de extractos secos de *M. officinalis* y *R. officinalis* en ratas en Santiago de Chile. Varios experimentos conductuales comprobaron que ambos extractos secos tienen efecto en la actividad motora y exploratoria, lo que puede permitir desarrollar fitofármacos psiquiátricos (16).

Hernández., (2017) evaluó la actividad antioxidante en extractos acuosos de *M. officinalis* en Hidalgo. Concluyó que la hoja tiene mejor capacidad de esta propiedad que el tallo y que a mayor temperatura de extracción, es mayor el nivel antioxidativo (17).

Vélez et al., (2017) analizaron en Ecuador los metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cympogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil), identificando esteroides insaturados, triterpenos pentacíclicos, fenilpropanoides y catequinas. Además, los extractos mostraron actividad antibacteriana contra *S. aureus* y *E. coli*. Demostraron que *M. officinalis* presentó mayor toxicidad (18).

D Armas et al., (2018) analizaron la actividad biológica el extracto de las hojas de *M. officinalis* en Ecuador. Revelaron que el preparado era antibacteriano, antifúngico y estaba compuesto por 7,9 ditertbutil- 1 oxaspiro, doconazol en mayor cantidad y un éster de ácido graso, entre otros (19).

Minchola et al., (2016) evaluaron el efecto del aceite de las hojas secas de *Melissa officinalis* L sobre el íleon de *Cavia porcellus* en Trujillo. Los resultados fueron que redujo las contracciones de la porción final del intestino delgado al igual que N-butil bromuro de hioscina. Concluyeron que el aceite redujo la contracción al ser inducida por acetilcolina (20).

Al realizar una búsqueda de referencias bibliográficas sobre la fitoquímica de la especie *Melissa officinalis*, estos, nos muestran estudios y análisis realizados a diversas partes de la planta.

Concerniente a la justificación de esta producción es la de llevar a cabo un estudio comparativo de humedad, rendimiento de extracción, pH, solubilidad, además de detectar fitoconstituyentes presentes en las hojas y tallos de *Melissa officinalis* y crear una crema en base a estas, buscándose así contribuir al estudio de esta valiosa planta. Con estos puntos se favorecería su empleo en indudables

utilidades que traería a favor de la salud poblacional, sobre todo a la que prefiere la medicina tradicional a la formal.

El objetivo de este trabajo de investigación fue realizar un análisis farmacognóstico diferencial de las hojas y tallos de la especie *Melissa officinalis* (toronjil) y elaborar una crema a base de la especie estudiada.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Enfoque y diseño de la investigación.

El estudio tuvo un enfoque mixto cuali-cuantitativo, porque se analizó e interpreto datos cualitativos y cuantitativos, la investigación fue no experimental, descriptiva, y de corte transversal. Fue no experimental, porque se observaron los fenómenos tal y como se generaron, no se manipulo de forma deliberada las variables; descriptivo porque se tuvo un retrato preciso de las características de estas y transversal, porque la recolección de datos se dio en un momento de tiempo único (20).

2.2 Población, muestra y muestreo.

El estudio se trabajó considerando la población total de especie *Melissa officinalis* (toronjil) del mercado “Santa Rosa”, ubicado en la avenida Tomás Valle, distrito del Callao, Provincia Constitucional del Callao, departamento de Lima. La muestra fue de tipo no probabilístico, el cual estuvo conformado por los especímenes recolectados en el mercado mencionado (1kg de hojas y 1kg de tallos).

El acopio de las muestras se realizó de forma manual y se utilizó una balanza para pesar 1Kg de hojas y 1Kg de tallos de la planta a estudiar (*Melissa officinalis*). Por último, las muestras se colocaron en una bolsa de plástico, la cual estuvo debidamente rotulada indicando el nombre, el lugar de recolección y la fecha (21).

- **Criterio de inclusión:** hojas y tallos, completos y maduros
- **Criterio de exclusión:** hojas y tallos incompletos, inmaduros o con coloración extraña.

2.3 Variable de la investigación.

El trabajo presento como primera variable, el análisis farmacognóstico diferencial de las hojas, tallos de la especie *Melissa officinalis* (toronjil). Según su naturaleza, es una variable compleja que presento dos dimensiones, cada una con su propia naturaleza y escala de medición (ANEXO A).

Definición conceptual: Los análisis farmacognósticos diferenciales son de mucha importancia para plantas medicinales y fitofármacos, comprendiendo la identificación taxonómica, composición química, valoraciones como humedad, sustancias solubles en diversos líquidos, cenizas totales, entre otros, en las cuales se compararon los resultados de diversas partes de la planta a las cuales se sometieron a los ensayos mencionados.

Definición operacional: Es el conjunto de técnicas para determinar las características botánicas, fitoquímicas y etnofarmacológicas de especies vegetales, donde se describe de manera cualitativa sus Fito constituyentes mediante el estudio de los compuestos químicos presentes en las plantas a través de reacciones. A partir de la identificación de estos, se calculan características como el porcentaje de humedad, rendimiento de extracción, densidad, pH, proporción de cenizas totales, el perfil de solubilidad, los constituyentes fitoquímicos, etc (22). (ANEXO A)

La segunda variable de estudio fue la elaboración de una crema tópica cicatrizante, regeneradora y desinflamante a base de las especies *Melissa officinalis* (toronjil) y *Aloe vera* (sábila). Según su naturaleza, es una variable compleja que presenta tres dimensiones, o sub-variables, cada una con su propia naturaleza y escala de medición.

Definición conceptual: Las cremas son preparados semisólidos para el tratamiento tópico que contiene el o los principios activos o aditivos necesarios para lograr una actividad o tratamiento. Este preparado suele ser multifase siempre contienen una fase lipófila y otra fase hidrófila, Las cremas son consideradas sistemas dispersos heterogéneos o emulsiones de dos fases inmiscibles (interna y externa) ambas líquidas, estabilizadas mediante la adición de emulgentes adecuados, esta forma farmacéutica la clasifica como una emulsión consistente.

Definición operacional: La preparación de esta forma farmacéutica semisólida tiene diferentes procesos como la preparación de la fase oleosa

que son los ingredientes en perlas o cera, a veces mezclados en seco por adelantado, se dispersan en aceite acompañado de los conservantes y quelantes. También la hidratación de ingredientes en fase acuosa. Los emulsionantes, espesantes y estabilizantes se dispersan en agua. Formándose la emulsión. Las dos fases se mezclan bajo agitación vigorosa para formar la emulsión. Finalmente, la dispersión del ingrediente activo que son los extractos. Los ingredientes activos solo constituyen una proporción pequeña de la formulación, pero deben dispersarse correctamente para maximizar el rendimiento y la actividad.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Las técnicas usadas durante la recolección de datos fueron de tipo analítico empleados frecuentemente en los estudios farmacognósticos y farmacotécnicos. Por eso se emplearon instrumentos de recolección de datos diseñados para examinar las variables y sub-variables relacionadas (Anexo B).

2.5 Plan de recolección de datos.

2.5.1 Recolección, selección e identificación de muestra.

- **Recolección:** La recolección de *Melissa officinalis* fue realizada en el mercado “Santa Rosa”, Distrito del Callao, Provincia Constitucional del Callao, Departamento de Lima; en bolsas plásticas. La recolección fue solo en hojas y tallos de la especie vegetal. Por otro lado, los ingredientes para la crema, como la vaselina blanca y sólida, lanolina anhidra y agua destilada se consiguieron en una empresa de distribución de químicos.
- **Selección de muestras:** El material vegetal recolectado fue cuidadosamente seleccionado al tomar en cuenta que todas las partes debieron estar en buen estado, libres de polvo, manchas y de otros elementos ajenos. Se procedió con el mismo cuidado los insumos químicos.
- **Identificación y clasificación taxonómica:** Una pequeña porción de la muestra fue llevada a un consultor botánico, para asegurar que la especie vegetal sea la correcta a trabajar (23).

2.5.2 Preparación de la muestra.

Para el trabajo se requirió un 1 kilogramo de hojas y 1 kilogramo tallos de *Melissa officinalis*.

- **Lavado:** se utilizó un recipiente y se procedió al lavado de las partes señaladas mediante el flujo de agua de caño. Luego, se sumergió en una solución de agua con gotas de hipoclorito de sodio y se dejó reposar por 10 minutos.
- **Trozado:** las partes de la planta seleccionadas se trozaron para así abarcar más superficie en el secado.
- **Secado:** Se consiguió papel Kraft, donde por separado fueron envueltas en este papel, dejándose los extremos libres. Luego, en una mesa fueron colocadas a temperatura ambiente, bajo sombra. Se dejaron así por varias semanas hasta obtener un peso constante.
- **Macerado:** 2 frascos envueltos en papel Kraft, fueron utilizados para almacenar las drogas en un frasco cada una, y se les añadió alcohol etílico de 96° hasta cubrir por completo las muestras. Cada 2 días se renovó el solvente hasta que saliera transparente (24).
- **Filtrado:** se procedió, con papel Whatman N°1, a filtrar para separar el solvente. Se colecto las soluciones restantes en nuevos recipientes.
- **Obtención del extracto:** para favorecer la evaporación del solvente, los líquidos antes filtrados se vertieron sobre placas Petri de vidrio, los cuales fueron llevados a una estufa de aire recirculante a 40°C durante 24 horas, hasta que se observó sequedad en los extractos (25).
- **Concentración del extracto:** se hicieron los cálculos para una formulación de una crema con 10% de concentración de *Melissa officinalis*.
- **Preparación de la crema:** se puso, en forma conjunta, a calentar vaselina tanto blanca como líquida, lanolina anhidra y agua destilada. Cuando estos se disuelvan, se añadió los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos. Luego, se procedió a batir la mezcla hasta que se enfríe y se convierta en una mezcla sólida.

2.5.3 Aspectos fisicoquímicos de las hojas y tallos

2.5.3.1 Humedad.

Se pesaron 2 gramos de cada muestra y se les transfirió a cápsulas de porcelana que fueron taradas y desecadas a 105°C. En seguida, se llevaron los crisoles a una estufa donde se calentaron a la misma temperatura que las cápsulas de porcelana por un lapso de 3 horas. Cuando acabo el tiempo, en un desecador se puso los crisoles hasta que se enfríen y se pesen. Fueron llevados a la estufa, pero ahora solo por una hora. De esa manera, se repitió el proceso hasta que se obtuvo pesos constantes de los crisoles con las muestras.

El porcentaje de humedad se determinó, para cada parte, mediante la expresión siguiente:

$$\%H = \left(\frac{P_2 - P_1}{P_2 - P_0} \right) \times 100$$

Dónde: %H = porcentaje de humedad

P₂ = peso de cápsula con la muestra fresca

P₁ = peso de cápsula con la muestra seca

P₀ = peso de la cápsula vacía

2.5.3.2 Determinación de pH.

Se agregó a 2 vasos de precipitados pequeños alícuotas de los extractos hidroalcohólicos de la planta. Con ayuda de un potenciómetro, se midió el pH de cada muestra al sumergir el electrodo del potenciómetro en las muestras correspondientes.

2.5.3.3 Porcentaje de rendimiento.

Se pesó las muestras molidas secas a macerar. Luego del proceso completo de maceración con renovación del solvente, se evaporo el solvente a sequedad y se pesó los extractos secos obtenidos. Los rendimientos de extracción se determinó mediante:

$$\%R = \frac{P_f}{P_i} \times 100$$

Donde:

%R = Porcentaje de rendimiento

P_f = Peso final del extracto seco

P_i = Peso inicial de muestra molida seca

2.5.3.4 Porcentaje de cenizas totales.

Se tomaron unas muestras de 3 gramos de hoja triturada y otras 3 de tallo triturado, y fueron puestos en un recipiente de porcelana (por separado). Estos recipientes se calentaron hasta que se carbonizaron. Con posteridad, se incineraron a una temperatura aproximada de 250°C por 6 horas. Luego se dejaron enfriar en una desecadora y se pesaron, repitiendo este paso hasta dos veces sucesivas y en cuya pesada no difiera de 0,5 mg. Para poder obtener la masa constante, los intervalos entre calentamiento y pesado deberán ser de 30 minutos. Para realizar los cálculos correspondientes a cada parte de la planta, se usó de la siguiente fórmula:

$$\%C_t = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

%C_t = Porcentaje de cenizas totales en base hidratada (%)

M = Masa del crisol vacío (en gramos)

M₁ = Masa del crisol con la porción de ensayo (en gramos)

M₂ = Masa del crisol con la ceniza (en gramos) (26)

2.5.3.5 Pruebas de solubilidad.

Se requirieron pequeñas cantidades de los extractos secos a estudiar (2 o 3 ml), los cuales se colocaron en diferentes tubos de ensayos y luego se les añadió gotas de varios solventes polarmente distintos, ordenados desde el más polar al menos polares, de esa manera se determinó la naturaleza disolutiva de los extractos. Esto tuvo que ser realizado a temperatura ambiente (37 °C).

TABLA N° 2: solventes usados para las pruebas de solubilidad (desde el más polar al menos polar)

Solventes	Concentraciones
Agua destilada	Químicamente puros
Metanol	
Etanol	96 %
Butanol	
Cloroformo	
Diclorometano	Químicamente puros
Éter de petróleo	

Fuente: elaboración propia.

2.5.4 Aspectos fisicoquímicos del preparado semisólido

Se tomaron en consideración diversos parámetros de control de calidad, los cuales fueron comparados con el gel “Arnikaderm gel 10%”, al tener compuestos similares en su elaboración.

2.5.4.1 Análisis organoléptico

Se usaron los sentidos para interpretar el aspecto, olor y color del preparado.

2.5.4.2 pH

Con ayuda de un potenciómetro, se midió esta característica al sumergirlo en ambos preparados.

2.5.4.3 Estabilidad térmica

Se determinó la estabilidad física de los preparados a temperatura ambiente, de 30 °C y de 50 °C, al pasar 6 semanas, anotándose los resultados al final de cada una.

2.5.4.4 Contenido volátil

Se puso una misma cantidad de ambos productos por separados en placas Petri, las cuales se llevaron a una estufa por 24 horas a una temperatura de 110° C.

2.5.4.5 Extensibilidad

Se puso medio gramo del preparado en un portaobjetos y con el cubreobjetos, se aplastó hasta que la crema formara una figura lo más similar a un círculo. A continuación, se midió el área del extendido. Se repitió el mismo proceso con la crema comercial.

2.5.5 Ensayos fitoquímicos cualitativos de las partes vegetales.

En esta etapa se analizaron la presencia de constituyentes del extracto hidroalcohólico de las hojas y tallos de *Melissa officinalis*. Para ello se realizaron 22 pruebas sucesivas (11 para tallos y 11 para hojas). Los resultados fueron registrados mediante distintos niveles de intensidad: (-) cuando la presencia del metabolito fue nula; (+), cuando la presencia del metabolito fue poca o escasa; (++) , cuando la presencia del metabolito fue mucha y (+++) cuando la presencia del metabolito fue abundante. Para la realización, se usaron 2 tubos de ensayos (uno para cada parte de la planta) para observar las reacciones, se usaron goteros y pipetas diferentes para tomar la muestra y poner los reactivos. Se agitaron todos los tubos de ensayo. Las reacciones químicas fueron las siguientes:

2.5.5.1 Dragendorff (alcaloides).

Se disolvieron 5 gotas de cada extracto en ácido clorhídrico 1% y se agregaran 2 o 3 gotas de este reactivo. Se agitaran los tubos. La formación de colores anaranjados, o precipitado anaranjado o marrón indicaran que se identificó dicho metabolito en alguno de los tubos.

2.5.5.2 Liebermann-Bouchard (triterpenos y/o esteroides).

Se tomaron 10 gotas de cada muestra a los cuales se les añadirá 10 gotas de anhídrido acético y luego una gota de ácido clorhídrico concentrado. Coloraciones verde-azul o verdosa en caso de esteroides y rojo en triterpenos indicaran si hubo detecciones positivas.

2.5.5.3 Espuma (saponinas).

Se tomaron una pequeña cantidad de cada extracto seco y serán disueltos en 5 ml de agua destilada. Se agitaran vigorosamente por 1 minuto, se esperara entre 15 y 20 minutos. Presencia de espuma superficial de más de 2 mm que persista por más de 2 minutos indicara si se encontró saponinas.

2.5.5.4 Bortrager (quinonas, naftoquinonas y antraquinonas).

Se utilizaron 5 gotas de cada extracto a los cuales se los llevaron a sequedad. Luego se les agregaron entre medio y un ml de tolueno, seguido de 1 ml de hidróxido de sodio al 5%. Serán pruebas positivas si la fase acuosa alcalina se coloreó de rosado (++) o rojo (+++).

2.5.5.5 Baljet (lactonas α , β insaturadas, cumarinas).

Se manejaron 5 gotas de cada extracto y se les agregaron 4 gotas de ácido pícrico. Serán positivas si aparecieron coloraciones o precipitados de color rojo (++ y +++) respectivamente.

2.5.5.6 Reacción con cloruro férrico (taninos).

A una pequeña alícuota de cada extracto se les agregaron 1 o 2 gotas del reactivo. La formación de azul a negro en alguno de los tubos, índico la presencia de taninos hidrolizables, mientras que una coloración verde índico la detección de taninos catéquicos.

2.5.5.7 Shinoda (flavonoides).

Se emplearon 10 gotas de cada extracto, se incorporaron pequeños trozos de magnesio metálico y 5 gotas de ácido clorhídrico concentrado, respectivamente. La presencia de flavonoides fue indicado a través de una coloración rojiza.

2.5.5.8 Fehling A y B (azúcares reductores).

Se usaron 5 gotas de cada muestra y se les añadió 10 gotas del reactivo Fehling A y otras 10 de Fehling B y se llevaron a baño maría por 5 minutos. Precipitados anaranjados indicaron una prueba positiva.
(25,26)

2.5.5.9 Sudán (aceites esenciales y grasas).

Se manejaron 2 ml de cada extracto vegetal, a los que se les agregaron 4 o 5 gotas del reactivo Sudán III. La aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro índico la presencia de lípidos y/o aceites esenciales (27).

2.5.5.10 Ninhidrina (aminoácidos).

Se emplearon unas gotas de los extractos y se les adicionaron 3 o 4 gotas de ninhidrina. Coloraciones rojizas, violetas o amarillas indicaron si las pruebas fueron positivas.

2.5.5.11 Hidróxido de sodio 10% (antocianinas).

Se les agrego unas gotas de esta base a gotas de ambos extractos. Las coloraciones azules indicaron si hubo presencia de este metabolito (28, 29, 30).

2.5.5.12 Formulación de la crema tópica

Tabla 2. Insumos para la elaboración de la crema de *Melissa officinalis* (toronjil) a las concentraciones de 5%,10% y 20% y *Aloe vera* 5%.

Nombre comercial	Nombre INCI	C1 (g)	C2 (g)	C3 (g)
Extracto de toronjil	Extracto de toronjil	5,0	10,0	20,0
Extracto de sábila	Extracto de sábila	5,0	5,0	5,0
Lanette Sx	Cetearyl Alcohol	5,0	5,0	5,0
Alcohol cetilico	Cetyl Alcohol	5,0	5,0	5,0
metilparabeno	Methylparaben	0,1	0,1	0,1
propilparabeno	Propylparaben	0,025	0,025	0,025
EDTA	Disodium EDTA	0,025	0,025	0,025
Agua	Water	80,0	80,0	80,0
		100	100	100

Fuente: Elaboración propia

2.5.5.13 Procedimiento de la elaboración de la crema tópica

En el procedimiento para la fase acuosa y oleosa, se pesaron los insumos según la tabla 2 inmediatamente, se colocaron en orden.

En un beacker, se fundió el alcohol cetilico, lanette Sx, metilparabeno, propilparabeno, EDTA hasta disolverse completamente y se verifico la

temperatura, se calentó hasta que llegue a 70°C, utilizando una cocinilla eléctrica. Control punto crítico la temperatura no mayor a 70 °C. en el otro beacker se calentó el agua a la misma temperatura anterior. Se mezcló la fase acuosa en la fase oleosa homogenizando enérgicamente y constante hasta formar la emulsión entre 15 a 20 minutos. Finalmente se verifico el aspecto homogéneo, sin grumos y enfriamiento se formó la crema, se dejó enfriar hasta la temperatura de 40°C para luego adicionar los extractos en diferentes concentraciones. Finalmente se dejó enfriar a temperatura ambiente para posterior envasado y rotulado.

2.5.5.14 Preparación del mucilago de las hojas de *Aloe vera*

Tabla 3. Insumo para la elaboración del mucilago de *Aloe vera* (sábila) 5%

INSUMOS	CANTIDAD
Mucilago de aloe vera	100g
Vitamina C	0,1 g

Fuente: Elaboración propia

2.5.5.15 Procedimiento de la elaboración del extracto mucilago de *Aloe vera*

Se realizó un corte transversal de las hojas con un cuchillo esterilizado y se lavó con agua destilada estéril para luego dejar remojado por 24 horas.

Luego se extrajo el gel (100 g). Este se llevó a una licuadora esterilizada y se agregara vitamina C (0,1 g), mezclando todo a una velocidad máxima hasta lograr una pasta homogénea con un color uniforme. Dicha vitamina cumple la función de inhibir la oxidación del Aloe vera. Luego se filtró primero con coladora y después con papel de filtro Wathman N° 1 aplicando vacío. Finalmente, el extracto crudo se guardó en frascos de vidrio ámbar y en refrigeración (4-8°C) hasta su posterior utilización.

2.5.5.16 Control de calidad de la de la crema a base extracto hidroalcohólico de *Melissa officinalis* (toronjil) y *aloe vera* (sábila).

2.5.5.16.1 CONTROL DE CALIDAD ORGANOLEPTICO

- **Aspecto homogéneo:** Se observó las características la muestra (crema) revisando si ocurrieron modificaciones macroscópicas o presenta cambios físicos.
La crema estuvo libre de grumos y partículas sólidas, no se debe observar signos de separación de fases, ni cambios.
- **Color:** Se observó por el sentido de la vista empleando luz blanca o natural la variación de color de la crema. Verificando si hubo aparición de color amarillo o pardo, ya que puede indicar la oxidación de la crema y a su vez pueden ir acompañado con un olor degradable por descomposición de las grasas utilizadas en la elaboración.
- **Olor:** Se realizó a través del sentido del olfato, mediante la percepción de los cambios de aroma de la muestra.
- **Sensación al tacto:** Se tomó una pequeña cantidad de muestra de crema en los dedos y se aplicó en el dorso de la mano haciendo movimientos ondulatorios dando calificación de acuerdo con la sensación que presente
- **Consistencia:** Se realizó través de la observación directa y perceptual.

2.5.5.16.2 CONTROL DE CALIDAD FISICOQUÍMICO

a) Ensayo de distribución y tamaño

Por observación microscópica de una muestra de la emulsión, se pudo determinar los fenómenos de aglomeración y coalescencia, que pueden producir inestabilidad de la emulsión con la consiguiente ruptura de la misma.

b) Determinación del pH

Se dispersó una pequeña cantidad de la crema (1-2 g) en un vaso de

precipitados que contenga unos 30-40 ml de agua destilada y se procedió a medir el pH. Introdujimos una tira en la crema y observamos que tuvo un pH bajo, ácido.

Este tipo de evaluación es importante para estudiar posibles alteraciones en la estructura de la formulación que no pueden ser percibidas a simple vista. Estos análisis indican problemas de estabilidad entre los ingredientes o resulta del proceso de elaboración.

c) Centrifugación

Esta prueba produce estrés en la muestra simulando un aumento en la fuerza de gravedad, aumentando la movilidad de las partículas y anticipando posibles inestabilidades. Estas son observadas en forma de precipitación, separación de fases, formación de escamas (caking), coalescencia entre otras. La muestra fue centrifugada en temperatura, tiempo y velocidad estándares. En seguida se evaluó visualmente la muestra. Se utilizó una centrifuga Gelectronic G-42, se centrifugo 5 g de cada emulsión durante 15 minutos a 3000 rpm.

d) Estrés térmico:

Se realizó almacenamientos consecutivos durante 48 horas a cada una de las siguientes temperaturas: 40 ± 2 °C, 5 ± 2 °C y 40 ± 2 °C. Al finalizar el ensayo se observó las muestras a simple vista con el fin de detectar separación de fases, y con ayuda del microscopio led poder detectar posibles cambios en las características líquido- cristalinas.

e) Determinación de la extensibilidad y extensibilidad aparente de la crema.

La determinación de la extensibilidad se realizó de la siguiente manera: se situó un portaobjetos conteniendo una pequeña muestra de la emulsión, encima de un papel milimetrado. Sobre dicho portaobjetos se coloca otro (de peso conocido) suavemente, se esperó 1 minuto y se anotó el radio del círculo formado. Se siguió el mismo procedimiento,

siempre a intervalos de 1 minuto, utilizando 2 pesas de 2 g y, finalmente, una pesa de 5 g. Con los radios obtenidos se calculó las superficies correspondientes. La determinación de la extensibilidad se realizó a temperatura ambiente.

El área de extensibilidad (AE) se calcula de la siguiente manera:

$$A_E = \pi (rp)^2$$

Donde:

Rp = radio promedio de 8 mediciones (cm)

- **Homogeneidad**

-Determinación de la uniformidad de las partículas insolubles

Se realizó una extensión de la muestra sobre un portaobjeto y se situó encima de una superficie negra, procediendo a su visualización mediante una lupa.

- **Extensibilidad aparente**

Este ensayo permitió tener una idea relativa de la facilidad de deslizamiento de la emulsión cuando es aplicada a través de la piel. Se toma una pequeña porción de emulsión y se aplicó sobre el antebrazo de forma longitudinal y en un único sentido evaluando su facilidad de deslizamiento. La extensibilidad se regula fácilmente empleando aceites y/o polioles. Cuanto mayor es la concentración de estas sustancias mayor es la extensibilidad de la emulsión formulada.

f) Tipo o signo de una emulsión

Se empleó para determinar si la emulsión formulada es w/o u o/w.

Método de la gota:

-Una pequeña porción de la emulsión (0,5) se sitúa mediante una varilla en un vaso de precipitados con 30 mL de agua destilada.

-Seguidamente se agito ligeramente.

h) Determinación de la densidad:

Es representada por la relación entre la masa de una sustancia y el volumen que ocupa y, generalmente para los líquidos, es determinado empleándose picnómetro o densímetro. En el caso de líquidos o semisólidos este parámetro indica la incorporación de aire o la pérdida de ingredientes volátiles.

Procedimiento:

- Se empleó un picnómetro vacío y seco
- Se lavó cuidadosamente el picnómetro y se secará bien, para ello se colocará durante una hora en la estufa a 100 °C
- Se dejó enfriar en desecador y se pesará vacío. (Se anotó el peso)
- Posteriormente se enraso el picnómetro con la muestra y se anotó el peso.

Calculamos la densidad:

$$\text{Densidad} = \frac{P_2 - P_1}{VP}$$

Donde:

P_1 = peso del picnómetro vacío (g)

P_2 = peso del picnómetro con muestra (g)

VP = volumen del picnómetro (mL)

i) Determinación de la solubilidad

Para la prueba de solubilidad se realizó colocando la muestra en agua y en alcohol.

- **Solubilidad en agua:** Se colocó en un tubo de ensayo 1 mL de agua destilada, luego se añadió 1 g de muestra, se agito fuertemente, en caso de no disolverse se aumentó el disolvente a 10 mL se agito y observo.
- **Solubilidad en alcohol:** Se colocó en un tubo de ensayo 1 mL de alcohol etílico, luego se añadió 1 g de muestra, se agito fuertemente (en

caso de no disolverse, se aumentó el disolvente a 10 mL agito y observo así sucesivamente para 0,03 L; 0,1 L; 1 L y más de 10 L.)

2.6. Métodos de análisis estadístico

Los datos fueron analizados con un software estadístico descriptivos de tendencia central, presentada en tablas y gráficos para ser procesados.

2.7 Aspectos éticos.

Durante la ejecución del presente trabajo, se consideraron diversos aspectos éticos como autonomía, beneficencia y justicia.

III. RESULTADOS

3.1 Aspectos fisicoquímicos de los extractos hidroalcohólicos al 96° de los hojas y tallos de *Melissa officinalis*

3.1.1 Humedad de las hojas y tallos frescos de toronjil

TABLA N° 4. Determinación de humedad de hojas y tallos frescos de *Melissa officinalis*

Masas (g)	Hojas	Tallos
Cápsula con muestra fresca	20,8072	26,8712
Cápsula con muestra seca	19,0864	25,1076
Cápsula vacía (diferentes)	18,8070	24,8709
Porcentaje de humedad	86,03%	88,16%

Fuente: elaboración propia.

En la Tabla N° 4, figuran los datos para la determinación de humedad de hojas y tallos frescos. Se determinó que los tallos poseen 86,0313969% de humedad y los tallos 88,155775%, lo que es un poco más del 2 % en estos últimos.

3.1.2 pH de los extractos hidroalcohólicos

TABLA N° 5. pH de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis*

pH	
Hojas	Tallos
5,7	5,9

Fuente: elaboración propia.

En la Tabla N° 5, se observa que el pH de las hojas es 5,7, mientras que el de tallos es un poco mayor y llega a 5,9.

3.1.3 Rendimiento de extracción de los macerados de hojas y tallos

TABLA N° 6. Porcentaje de rendimiento de los extractos hidroalcohólicos al 96° de hojas y tallos de *Melissa officinalis*

Muestras	Hojas	Tallos
Extracto seco	2,1 g	0,8 g
Muestra inicial seca molida	38 g	20 g
Rendimiento	5,53%	4,00%

Fuente: elaboración propia.

Se aprecia, en la Tabla N° 6, que se pudo extraer mayor cantidad de materia en las hojas con el alcohol etílico de 96° que en los tallos.

3.1.4 Cantidad de cenizas de muestras frescas de hojas y tallos

TABLA N° 7. Cenizas totales de muestras frescas de hojas y tallos de *Melissa officinalis*

Materiales	Hojas	Tallos
Crisol con muestra fresca	25 g	25 g
Crisol con cenizas	24,18 g	22,53 g
Crisol solo	22 g	22 g
Cenizas totales	72,6%	17,6%

Fuente: elaboración propia.

La cantidad de cenizas absolutas, como se ve en la tabla N° 7, es de 72,6% en hojas y 17,6% en tallos, lo que significa que se produjo 4,11 veces la cantidad de cenizas en hojas que en tallos.

3.1.5 Solubilidad extractos secos de hojas y tallos

TABLA N° 8. Solubilidad de muestras secas de hojas y tallos de *Melissa officinalis*

Solvente	Hojas	Tallos
Agua destilada	-	-
Metanol	++	+++
Etanol	+	+
Butanol	+++	+++
Cloroformo	++	+++
Diclorometano	++	++
Éter de petróleo	++	+

Fuente: elaboración propia.

Legenda: - : Insoluble; +: Poco soluble; ++: Medianamente soluble; +++: Muy soluble

En la tabla N° 8 se observa que ambos extractos secos son solubles tanto en solventes polares como apolares, pero no en agua destilada.

3.2 Aspectos fisicoquímicos de la crema

3.2.1 Análisis organoléptico

TABLA N° 9. Análisis organoléptico de las cremas de *Melissa officinalis* y *Aloe vera*

	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aloe vera</i>
Aspecto	Crema	Crema
Olor	Similar al limón	Característico
Color	Blanco	Blanco

Fuente: elaboración propia.

En la tabla N° 9, se describen las características organolépticas de la crema de *Melissa officinalis* y *Aloe vera* para poder diferenciar y reconocer las presentaciones generadas para la aplicación de las especies medicinales.

3.2.2 pH

TABLA N° 10. pH de las cremas de *Melissa officinalis* y *Aloe vera*

Materiales	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aloe vera</i>
	5.8	6.2

Fuente: elaboración propia.

En la tabla N° 10, se observó el pH de la crema a base de *Melissa officinalis* que fue de 5.8 y el de *Aloe vera* se determinó que fue de 6.2.

3.2.3 Estabilidad térmica

TABLA N° 11. Condiciones para determinar la compatibilidad de *Melissa officinalis* en condiciones de ciclaje

Tiempo		Condición	Almacenamiento
Días	Horas		
1	0	2 – 8 °C	Refrigerador
3	72	20 °C	Cámara de estabilidad
6	144	60 °C	Cámara de estabilidad
9	216	2 – 8 °C	Refrigerador
12	288	20 °C	Cámara de estabilidad
15	360	60 °C	Cámara de estabilidad

Fuente: elaboración propia.

En la tabla N° 11, se observó las condiciones que debe presentar la crema a base de *Melissa officinalis* durante su ciclaje.

3.2.4 Dispersión

TABLA N° 12. Clasificación del producto de acuerdo al diámetro de dispersión.

Diámetro	Tipo de producto
Mayor de 70 mm	Fluido
De 50 a 70 mm	Poco fluido
De 30 a 50 mm	Rígido
Menor de 30 mm	Muy rígido

Fuente: elaboración propia.

En la tabla N° 12, se observó la dispersión de la crema a base de *Melissa officinalis* dependiendo del diámetro analizado.

3.2.4 Contenido volátil

TABLA N° 13. Contenido volátil de las cremas de *Melissa officinalis* y *Aloe vera*

Peso	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aloe vera</i>
Antes de la estufa	150 g.	190 g.
Después de la estufa	124 g.	132 g.

Fuente: elaboración propia.

En la tabla N° 13, observamos que al analizar la volatilidad por medio del uso de la estufa se observó una disminución en el peso de la crema de *Melissa officinalis* pasando de 150 g. a 124 g. y la crema a base de *Aloe vera* que paso de 190 g. a 132 g.

3.2.5 Extensibilidad

TABLA N° 14. Extensibilidad de las cremas de *Melissa officinalis* y *Aloe vera*

Área	<i>Melissa officinalis</i>	<i>Aloe vera</i>
	1.78 cm ²	2.08 cm ²

Fuente: elaboración propia.

En la tabla N° 14, se identificó la extensibilidad de la crema a base de *Melissa officinalis* que fue de 1.78 cm² y la de *Aloe vera* que fue 2.08 cm².

3.3 Aspectos fitoquímicos de los extractos hidroalcohólicos

TABLA N° 15. Constituyentes fitoquímicos de los extractos hidroalcohólicos de hojas y tallos de *Melissa officinalis*

Metabolito	Ensayos	Hojas	Tallos
Alcaloides	Dragendorff	+	+++
Terpenos y esteroides	Liebermann-Bouchard	++	++
Saponinas	Espuma	-	-
Antraquinonas	Borntrager	-	-
Lactonas α , β insaturadas, cumarinas	Baljet	-	-
Taninos	Cloruro férrico	++	-
Flavonoides	Shinoda	+	++
Azúcares reductores	Fehling A y B	-	++
Grasas	Sudán	+	+
Aminoácidos	Ninhidrina	+	+
Antocianinas	Hidróxido de sodio	-	-

Fuente: elaboración propia.

Leyenda: (-): Ausencia; (+): Mínima; (++): Mediana; (+++): Abundante presencia

En la tabla N° 15 se aprecia que los tallos tienen mayor concentración de alcaloides, terpenos, esteroides, flavonoides y azúcares reductores. Además, ambos tienen casi los mismos metabolitos y ninguno de los 2 extractos contiene saponinas, antraquinonas, cumarinas ni antocianinas.

IV. DISCUSIÓN

4.1 Discusión de resultados

Este trabajo de investigación tuvo la finalidad de contribuir al conocimiento farmacognóstico de recursos terapéuticos nacionales, enfocado en el estudio de *Melissa officinalis*, de nombre común toronjil, a través de la comparación de diversos aspectos, tanto fisicoquímicos como fitoquímicos, entre los que se encuentran humedad, rendimiento de extracción, pH, solubilidad y la detección de fitoconstituyentes.

En el mercado "Santa Rosa", ubicado en la avenida Tomás Valle, distrito del Callao, se adquirieron hojas y tallos de *Melissa officinalis*, los cuales fueron sometidos a diversos procedimientos, a la vez fue llevado al laboratorio donde se realizaron pruebas fisicoquímicas y de identificación de constituyentes fitoquímicos de las partes de la planta mencionadas, de las cuales se evaluaron similitudes y diferencias entre ellas.

En el transcurso de la ejecución antes descrita, hubo algunos inconvenientes. Al comienzo, fue el no recolectar la especie en cuestión en su habitat natural, debido a las restricciones que el gobierno impuso en base al avance de la pandemia. El segundo, fue la obtención de resultados erróneos en la densidad, que fueron descartados. En esto, el valor de los extractos secos era menores a 1g/ml, lo que era equivocado, ya que estos no flotan sobre el agua destilada, sino que se hunden. A pesar de esto, se considera como válido lo desarrollado porque ha considerado otros aspectos como los descritos en el párrafo anterior. Además, estas otras pruebas realizadas, se pueden emplear en otras especies vegetales que no se han estudiado con profundidad o del todo.

En la Tabla N° 4 de Humedad, la diferencia de 86,03% de hojas y 88,16% de tallos, obedece a que en estos últimos están los xilemas. En estos circula el agua, en donde las moléculas de agua ascienden por cohesión, lo que impide la desecación de las hojas (31). En la Tabla N° 5, el pH de 5,9 de tallos fue mayor al 5,7 de hojas porque el pH del suelo puede influir en él al igual que la cantidad de fitoconstituyentes apreciados en la Tabla N° 15. Por otro lado, en la Tabla N° 7, el porcentaje de cenizas de 72,6% en hojas fue mayor que los 17,6% en tallos

porque las primeras realizan más actividad metabólica (como la fotosíntesis) que los tallos (32). Para tales funciones se necesitan diversos compuestos orgánicos e inorgánicos, entre ellos se requieren de gran variedad de enzimas y proteínas que emplean iones metálicos como grupos prostéticos o cofactores lo que se refleja en la cantidad de cenizas (33). En base a estos aspectos, Carrera (34), encontró resultados muy similares porque ha utilizado las hojas de la especie que también fue recolectada en mercados.

En cuanto al rendimiento de extracción de la Tabla N° 6, los porcentajes de 5,53% de hojas y de 4% para los tallos se equipara a lo mencionado por Stangler (35), en donde se menciona que el rango obtenido en su estudio fue entre 2,1% y 8,4%. La diferencia entre las partes de la planta se debe a la naturaleza polar y la estructura hidrocarbonada del hidroxilo del etanol que con su gran electronegatividad atrae iones polares y apolares (36), lo cual se relaciona con más sustancias solubles en etanol.

Con respecto a la solubilidad en diversos solventes de la Tabla N° 8, Navarro (37), afirma que el extracto de esta planta es soluble en solventes orgánicos, debido a la presencia de aceites esenciales, lo que coincide con los resultados de este trabajo. Además, en los solventes de baja y mediana polaridad, se disolvieron alcaloides y esteroides, que tienen esa característica, lo que se confirmó con los resultados fitoquímicos en la Tabla N°8. En adición a los resultados de esta tabla, se encuentran algunas diferencias en flavonoides y alcaloides, al igual que lo publicado por Vélez *et al.*, (17). Esto se debe a que en ese estudio se consideró al metanol como solvente y solo se utilizaron las hojas. Estos componentes resultan importantes porque se asocian a propiedades farmacológicas: los flavonoides son antioxidantes (38) mientras que los alcaloides son analgésicos, antiinflamatorios e incluso anticancerígenos (39).

También se analizó la crema formulada a base de *Melissa officinalis* en la Tabla N° 9, se observó su forma cremosa, el olor es similar a la del limón y el color es blanco. Otra cualidad de la crema que se evidenció fue el pH en la Tabla N° 10, se identificó que es de 5.8; en la Tabla N°12, se observó la dispersión identificando que en el diámetro mayor de 70mm es fluido, de 50 a 70mm es poco fluido, de 30 a 50mm es rígido y a menor de 30mm es muy rígido. En la

Tabla 14, se determinó la extensibilidad de la crema que fue 1.78 cm². En la tabla 15 se identifica que en el tallo tiene mayor concentración es alcaloides, terpenos, esteroides, flavonoides y azúcares reductores y en ambas partes de la planta hojas y tallos se presentan casi los mismos metabolitos.

4.2 Conclusiones

Luego de llevar a cabo diversos análisis para diferenciar las propiedades farmacognósticas de hojas y tallos de *Melissa officinalis* comprada en un mercado se puede concluir que:

- Se realizó con éxito el análisis farmacognóstico diferencial de las hojas y tallos de la especie *Melissa officinalis* (toronjil), lo que significa que los resultados obtenidos son considerados como válidos.
- Se determinó que tallos (88,16%) contienen mayor cantidad de líquidos que las hojas (86,03%) porque por allí circula el agua del xilema.
- Se determinó que el pH de las hojas es 5,7 y de los tallos es 5,9. La diferencia de pH está relacionado con la variedad y cantidad de metabolitos secundarios.
- Se calculó que el porcentaje de rendimiento de extracción de las hojas es 5,5263% y de los tallos es 4%, lo que da a entender que existe mayor cantidad de componentes sólidos en las hojas a comparación de los tallos cuando se extrae con etanol de 96°.
- Se determinó que el porcentaje de cenizas de tallos fue de 17,6%, mientras que en las hojas fue de 72,6%, lo que indica que estas cumplen un rol muy importante en el metabolismo de la planta.
- Se identificaron los principales metabolitos en hojas (terpenos, esteroides y taninos) y en tallos (alcaloides, terpenos, esteroides, flavonoides y azúcares reductores) que tuvieron más abundancia en comparación a las hojas. Entonces, los tallos, al tener mayor concentración de fitoquímicos tienen un potencial mejor perfil farmacológico, podrían tener mejor uso terapéutico que las hojas.
- Se formuló una crema tópica a base de *Melissa officinalis* (Toronjil) con pruebas necesarias para el control de calidad que todo producto de uso dermo-cosmético debe cumplir para ser seguro.

4.3 Recomendaciones

- Se recomienda realizar otras pruebas diferenciales, como densidad y un análisis organoléptico.
- Se aconseja hacer los mismos procedimientos descritos en este trabajo con otra parte de la planta, como las raíces y utilizar plantas frescas, recién recolectadas de su habitat natural. De esa manera comparar con los resultados encontrados de la planta comprada en un mercado.
- Se sugiere utilizar otro solvente para la maceración, para que se puedan extraer más cantidad de otros componentes y compararlos con un macerado de alcohol etílico.
- Se recomienda realizar el análisis de otras plantas que tengan propiedades farmacológicas similares para comparar la presencia de fitoconstituyentes, como también de otras que se han estudiado muy poco, para contribuir a tener mayor diversidad de recursos terapéuticos en el país.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy review*. 2012; 6:1-5 pp.
2. Cortéz-Gallardo V, Macedo-Ceja P, Hernández-Arroyo M, Arteaga-Aureoles G, Espinosa-Galván D, Rodríguez-Landa F. Farmacognosia: breve historia de sus orígenes y su relación con las ciencias médicas. 2004; 15(2):14 *REVISTA BIOMÉDICA*. DOI: 10.32776/revbiomed.v15i2.381
3. WHO. WHO monographs on selected medicinal plants: WHO; 2002. WHO, Monographs on Selected medicinal plants, Vol. 2, 180-187, Ginebra: World Health Organization (2002).
4. Ávalos A, Pérez-Urria E. Metabolismo secundario de plantas. *Reduca*. 2009; 2(3):119-20 pp.
5. Rengifo D. Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium Vargasianum* Schubert. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2018; 84:175 pp.
6. Sepúlveda G, Porta H, Rocha M. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 2003; 21(3):355-363 pp.
7. Bussmann R, Sharon D. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia. *Ethnobotany Research and Applications*. 2018; 15:1-293 pp.
8. Organización Panamericana de la Salud. Situación de las plantas medicinales en Perú. Informe de reunión del grupo de expertos en plantas medicinales. 2018. Lima: 4-5 pp.
9. Lemes C, Rodríguez C, Acosta L. Estudios agrícolas en *Melissa officinalis* L. (toronjil): fecha de propagación y plantación. *Rev Cubana Plant Med*. 2001; 6(3): 93-97 pp.
10. Acevedo D, Navarro M, Montero P. Composición Química del Aceite Esencial de las Hojas de Toronjil (*Melissa officinalis* L.) Información tecnológica. 2013; 24:49-54 pp.
11. Vázquez J. Toronjil: características, hábitat, propiedades, cultivo, cuidados Venezuela: Lifeder.

12. Muñoz F. Plantas medicinales y aromáticas: estudio, cultivo y procesado. Madrid-España: Multi-Prensa; 2002. 18 p.
13. Kuklinski C. Melissa. Farmacognosia. Barcelona-España: Omega; 2003.
14. Formulaciones Galénicas. (2005). Eucerin (citado el 10 de julio del 2021) [https://www.google.com/search?q=Formulaciones+Gal%C3%A9nicas.+\(2005\).+Eucerin&oq=Formulaciones+Gal%C3%A9nicas.+\(2005\).+Eucerin&aqs=chrome.69i57j33i160l2.1632j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8](https://www.google.com/search?q=Formulaciones+Gal%C3%A9nicas.+(2005).+Eucerin&oq=Formulaciones+Gal%C3%A9nicas.+(2005).+Eucerin&aqs=chrome.69i57j33i160l2.1632j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8)
15. Caroch M, Barros L, Calhelha RC, Ćirić A, Soković M, Santos-Buelga C, et al. Melissa officinalis L. decoctions as functional beverages: a bioactive approach and chemical characterization. Food & Function. 2015; 6(7):2240-8.
16. Gallardo C. Actividad antioxidante y efecto ansiolítico de extractos secos estandarizados de Melissa officinalis y Rosmarinus officinalis en ratas Sprague Dawley. Tesis de titulación. Santiago, Chile: Universidad de Chile - Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas; 2015. VIII pp.
17. Hernández J. Evaluación de la actividad antioxidante e identificación de compuestos presentes en extractos acuosos de Melissa officinalis por HPLC-MS. Tesis de titulación. Hidalgo, México. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, 2017. 45 pp.
18. Vélez R, D'Armas-Regnault H, Jaramillo-Jaramillo C, Vélez E. Metabolitos secundarios, actividad antimicrobiana y letalidad de las hojas de *Cymbopogon citratus* (hierba luisa) y *Melissa officinalis* (toronjil). facsalud. 2018; 2(2):31-9 pp.
19. Haydelba D'Armas, Carmita Jaramillo-Jaramillo, Ligia Llovera, Liz Cubillán, Mayra D'Armas. (2018). Chemical characterization and biological activity of apolar fraction from Melissa officinalis L. leaves. Revista Bio Ciencias 5, e385. 1 pp.
20. Minchola A, Sánchez D. Efecto del aceite esencial de las hojas secas de melissa officinalis L. sobre íleon aislado de *Cavia porcellus*. Tesis de pregrado. Trujillo, Perú. Universidad Nacional de Trujillo, 2016, i pp.
21. Robles F. Los 24 Tipos de Investigación Científica y sus Características - Lifeder [Internet]. Lifeder. 2020. Disponible en: <https://www.lifeder.com/tipos-investigacion-cientifica/>

22. Seco A, Invernón V, de la Estrella M, López E, Alcaraz J. Manual de laboratorio de Botánica. El herbario. Recolección, procesamiento e identificación de plantas vasculares. Reduca (Biología) Serie Botánica. 2012; 5:17-19 pp.
23. Cabrera H, Rodríguez F, Amador M, Hernández A, Luz L. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17:268-78 pp.
24. Bok Y, Egusquiza E. Actividad antimicótica in vitro del extracto acuoso del fruto de *Passiflora tripartita* (Juss.) Poir. Var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jorg. (Tumbo) sobre cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*. Tesis de titulación. Lima-Perú. Universidad Inca Garcilaso de la Vega, 2019. 29 pp.
25. Gonzales W, Palacios M. Estudio farmacognóstico y actividad anti-inflamatoria del fruto de *Averrhoa carambola*.
26. Mojica M. Evaluación de la actividad antibacteriana del extracto etanólico de *Cassia occidentalis* (Brusca) y *Cymbopogon citratus* (Limoncillo) sobre dos cepas bacterianas (*Aeromonas* spp, *Pseudomonas* spp). Tesis de titulación. Tunja-Colombia. Fundación Universitaria Juan Castellanos, 2013. 42 pp.
27. Cabrera H, Rodríguez F, Amador M, Hernández A, Luz L. Composición fitoquímica de partes aéreas frescas de *Phania matricarioides*. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012; 17:268-78 pp.
28. Herrera N. Guía de prácticas. Asignatura: Farmacognosia. Lima-Perú: Universidad Inca Garcilaso de la Vega; 2017. 17-20 pp.
29. Matos, F. Introdução à Fitoquímica Experimental. 3era ed. Fortaleza, Brasil: Edições UFC; 2009. 45-73 pp.
30. Cuello A. Guía de laboratorio de bioquímica II. Colombia: Corporación Universitaria Rafael Núñez; 2018. p. 17.
31. Vázquez-Jorge YG, Guerra-Molina L, Quintana-Tamayo JF, Ramírez-Arzuaga J, Fernando-Ballesteros R, Vázquez-Jorge Y. Caracterización físico-química y contenido de proteínas de extractos fluidos del ostión de mangle (*Crassostrea* spp) %J Revista Cubana de Química. 2014; 26:69 pp.

32. Martínez-Vilalta, J. y Piñol, J. 2003. Limitaciones hidráulicas al aporte de agua a las hojas y resistencia a la sequía. *Ecosistemas* 2003/1 (URL: <http://www.aeet.org/ecosistemas/031/investigacion1.htm>)
33. Ortega G. La hoja y la fotosíntesis. ABC. 2013
34. Pérez-Urria P. Fotosíntesis: Aspectos Básicos. *Reduca (Biología). Serie Fisiología Vegetal*. 2 (3): 1-47, 2009. ISSN: 1989-3620
35. Carrera A. Determinación microbiológica y de metales pesados en toronjil (*Melissa officinalis*) y taraxaco (*Taraxacum officinale*), expendidos en los diferentes mercados del distrito metropolitano de Quito. Tesis de titulación. Quito-Ecuador. Universidad Politécnica Salesiana de Quito, 2016. 34, 36, 49 pp.
36. Stangler S, Škerget M, Knez Ž. Solvent extraction study of antioxidants from Balm (*Melissa officinalis* L.) leaves [Internet]. Maribor: University of Maribor; 2003. DOI:10.1016/S0308-8146(02)00382-5
37. Ethanol as a solvent: Disponible en: <https://easychem.com.au/production-of-materials/renewable-ethanol/ethanol-as-a-solvent/#:~:text=Ethanol%20is%20a%20very%20polar,take%20place%20with%20other%20molecules.&text=Ethanol%20therefore%20attracts%20non%2Dpolar,polar%20and%20non%2Dpolar%20substances>.
38. Navarro M. Potencial de los aceites esenciales de toronjil (*Melissa officinalis*), orégano (*Origanum vulgare* L) y bleo (*Pereskia bleo*), para ser utilizados como saborizantes en aceites comestibles de mesa. Tesis de titulación. Cartagena-Colombia. Universidad de Cartagena, 2012. 17, 25 pp.
39. S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. M. Culebras* y M.^a J. Tuñón. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*. 2002. ISSN 0212-1611
40. Kurek J. Introductory chapter: alkaloids – Their importance in Nature and for Human Life. 2019. DOI: 10.5772/intechopen.85400

ANEXO A: Operacionalización Análisis Farmacognóstico

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERATIVA	DIMENSIONES	NATURALEZA	ESCALA DE MEDICION	MEDIDA	INDICADORES	UNIDAD DE MEDIDA
Estudio farmacognóstico de las hojas y tallos de <i>Melissa officinalis</i> (toronjil)	El análisis farmacognóstico diferencial se refiere a un examen de características biológicas, químicas y farmacológicas de un ser vegetal, de las cuales se puede observar similitudes o diferencias entre partes de una misma planta	El análisis farmacognóstico diferencial fue realizado a través del extracto de las drogas, mediante la utilización de diversos reactivos que producirán reacciones químicas.	Parámetros fisicoquímicos	Cuantitativa	Razón	Directa	Humedad	Porcentaje (%)
							pH	No tiene
							Cenizas totales	mg/100g
							Rendimiento de extracción.	Porcentaje (%)
							Organoléptico	g
							Estabilidad térmica	
							Contenido volátil	
							Extensibilidad	cm ²

					- Perfil de solubilidad. (-) Insoluble (+) poco soluble (++) medianamente soluble (+++) Muy soluble
	Cualitativa	Nominal			
Identificación fitoquímica	Cualitativa	Nominal	Directa	Alcaloides Terpenos y esteroides Saponinas Antraquinonas Cumarinas Taninos Flavonoides Azúcares reductores Grasas Aminoácidos Antocianinas	(-) No hay (+) poca presencia (++) bastante presencia (+++) abundante presencia

Crema tópica con aloe vera (sábila)	Son formas farmacéuticas semisólidas emulsionadas que contienen uno o varios principios activos y hasta un 80% de agua.	Se realizará la formulación de la crema procediendo a añadir el extracto (toronjil) luego el extracto de aloe vera.	Concentración de extracto toronjil y sábila	Cuantitativa			Extracto de toronjil 5,10,20% Extracto de aloe vera 5%		Po
	Este término se ha aplicado tradicionalmente a los semisólidos que poseen una consistencia relativamente fluida formulada ya sea como una emulsión aceite en agua o agua en aceite.	Los ensayos cualitativos y cuantitativos de control de calidad que deben realizarse a la forma farmacéutica de uso tópico, que frecuentemente son prescritas en formulaciones. Estos ensayos analíticos de los principios activos, concentración, formulación y control de calidad tiene como objetivo identificar la actividad cicatrizante, regeneradora y desinflamante.	Fórmula de crema base	Control de calidad	Cuantitativa	Razón	Directa	Formula base g Ensayo de Homogeneidad Ensayo de distribución y tamaño Ensayo de estabilidad Determinación del pH organolépticos	Mg

--	--	--	--	--	--	--	--	--	--

Esca
a 14

ANEXO B: Instrumentos de recolección de datos

TAMIZAJE FITOQUÍMICO			
PRUEBAS		RESULTADOS	
		Hojas	Tallos
Alcaloides	Dragendorff		
Terpenos y esteroides	Liebermann-Bouchard		
Saponinas	Espuma		
Antraquinonas	Borntrager		
Lactonas α , β insaturadas, cumarinas	Baljet		
Taninos	Cloruro férrico		
Flavonoides	Shinoda		
Azúcares reductores	Fehling A y B		
Grasas	Sudán		
Aminoácidos	Ninhidrina		
Antocianinas	Hidróxido de sodio		

	Humedad	pH	Rendimiento	Cenizas totales	Solubilidad						
					Agua destilada	Metanol QP	Etanol 96%	Butanol QP	Cloroformo QP	Diclorometano QP	Éter de petróleo
Partes de la planta											
Hojas											
Tallo											

ANEXO C: Certificado de identificación botánica

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ
CONSULTOR BOTÁNICO
C. B. P. N° 3796
Tel: 017512863 RPM 963689079
Email: jocamde@gmail.com



CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACION BOTÁNICA

JOSÉ RICARDO CAMPOS DE LA CRUZ. BIÓLOGO COLEGIADO- N° 3796 - INSCRITO CON EL N° 36 EN EL REGISTRO DE PROFESIONALES QUE REALIZAN CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE ESPECÍMENES Y PRODUCTOS DE FLORA - RESOLUCIÓN DIRECTORAL N° 0311-2013- MINAGRI-DGFFS-DGEFFS.

CERTIFICA:

Que, PÉREZ CABALLERO, MYRNA CATHY, estudiante de la Universidad María Auxiliadora, Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, con fines de investigación ha solicitado la identificación y certificación botánica de una planta procedente del distrito de Anta, provincia de Carhuaz, departamento Ancash, donde es conocida con el nombre vulgar de "toronjil", la muestra ha sido estudiada e identificadas como: *Melissa officinalis* L. Según la base de Tropicos que sigue la clasificación de los grupos de filogenia de las angiospermas (APG), sistema moderno de clasificación de las angiospermas publicado en 1998 por el Grupo para la Filogenia de las Angiospermas, revisado por APG II (2003), APG III (2009) y APG IV (2016), comparado con el Sistema Integrado de Clasificación de las Angiospermas de Arthur Cronquist, et. al (1981), ocupa las siguientes categorías taxonómicas.

Categorías	Sistema APG-2016	Sistema de Cronquist 1981
Reino	Plantae	Plantae
División	Angiospermae	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida	Magnoliopsida
Subclase	Magnoliidae	Asteridae
Orden	Lamiales	Lamiales
Familia	Lamiaceae	Lamiaceae
Género	<i>Melissa</i>	<i>Melissa</i>
Especie	<i>Melissa officinalis</i> L	<i>Melissa officinalis</i> L.

Nombre vulgar: "toronjil"

Se expide la presente certificación para los fines de investigación científica.

Lima, 27 de marzo del 2021

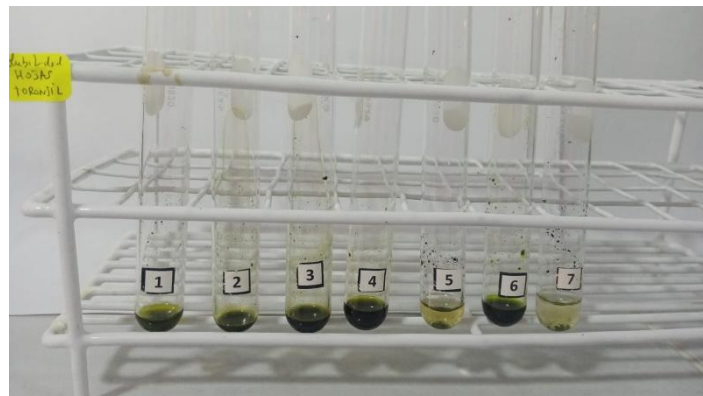


JR. SANCHEZ SILVA N° 156- piso 3. Urb. Santa Luzmila. Lima 07
Email. joricampos@yahoo.es; jocamde@gmail.com

ANEXO D: Evidencia de la ejecución del trabajo de investigación



Recolección de la especie vegetal



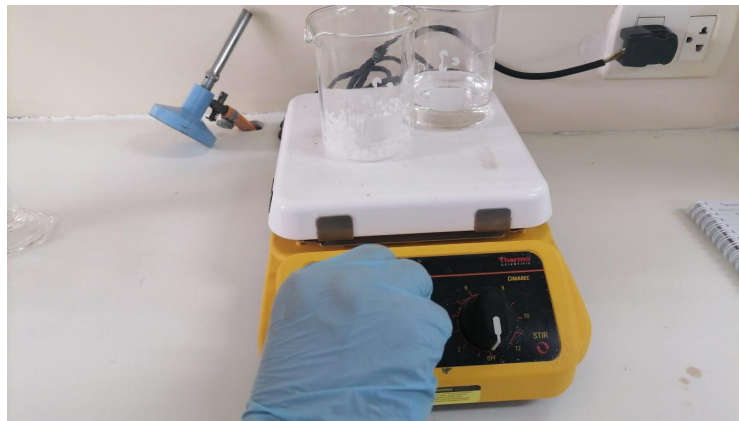
Pruebas de solubilidad del extracto seco de hojas



Pruebas de identificación de fitoconstituyentes en tallos



Preparando las fases para la emulsion



Calentando ambas fases



Obteniendo la emulsion (crema)



Los extractos



Emulsion finalizada

