

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA – LEÓN
UNAN-LEÓN

Facultad de Ciencias y Tecnología

Departamento de Química

Licenciatura en Química



Monografía para optar al título de Licenciado en Química

Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Autores:

- **Br.** Luis Antonio Guevara Mayorga
- **Br.** Mery Carmen Martínez Chávez

Tutora:

- **Ph.D.** María Ernestina Soto Sarria.

León, julio 2023

“A la Libertad por la Universidad”

Resumen

Esta investigación tiene como finalidad aplicar la espectrofotometría UV para comparar el contenido de taninos presentes en bebidas de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd, conocida en Nicaragua como altamiz, simulando condiciones de preparación ancestral y comercial. La población de estudio son las hojas de las plantas de altamiz del casco urbano de la ciudad de Chichigalpa, a las cuales se realizó la identificación taxonómica en el herbario "Miguel Ramírez Goyena" de la UNAN-León. Con el fin de determinar las variables y sus niveles, se realizó una encuesta relativa a los usos y modos de preparación de las bebidas elaboradas a partir de dichas hojas, las cuales son empleadas con fines medicinales, ya que según el conocimiento ancestral son capaces de reducir la presión arterial (hipotensores), antioxidante, mejorar los trastornos menstruales y digestivos y aliviar los síntomas de la menopausia. A partir de esta información se seleccionaron tres variables a dos niveles para optimizar la extracción de taninos mediante análisis factorial 2^3 . Previo a la cuantificación, se llevó a cabo el análisis cualitativo de los ocho experimentos resultantes de las condiciones ancestrales empleando reacciones, de complejación y precipitación, selectivas para taninos. Los extractos acuosos con resultado positivo para taninos fueron analizados por espectrofotometría UV empleando el método de Folin-Ciocalteu a 310 nm, en el que se determinó la concentración de ácido tánico (AT) equivalente a taninos, resultando como punto óptimo el preparado con once hojas frescas (HF) enteras y sometidas a decocción cuyo resultado fue 1.74 mg AT/g HF. El punto óptimo de la condición ancestral fue comparado con el extracto que simula la condición comercial de infusiones o tés (0.97mg AT/g HF) mediante análisis estadístico ANOVA, encontrándose que existen diferencias significativas entre las concentraciones de ácido tánico equivalente a taninos en hojas frescas y hojas secas, lo que no hace posible recomendar en esta condición la comercialización de hojas de altamiz.

Carta de autorización

León, 25 de julio de 2023

Ph.D. Sergio José López Grío
Director
Departamento de Química
Facultad de Ciencias y Tecnología
UNAN-León
Su despacho

Estimado Doctor López:

Ante todo, reciba saludos fraternos de nuestra parte.

En mi condición de tutora del trabajo monográfico titulado: "*Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta*", certifico que el trabajo realizado cumple con las exigencias académicas y metodológicas establecidas; así como con los requisitos de forma del trabajo, de citación y de bibliografía. Por lo anterior, **autorizo** la presentación del documento para su defensa por sus autores quienes optan al título de licenciado en Química.

Los autores son:

- **Br.** Luis Antonio Guevara Mayorga, 16-00599-0
- **Br.** Mery Carmen Martínez Chávez, 16-01122-0

Fraternalmente,

María Ernestina Soto Sarria
Académica
Departamento de Química

CC. Archivo

Índice

Introducción	1
Objetivos:.....	3
Objetivo general:.....	3
Objetivos específicos:.....	3
Marco teórico.....	5
<i>Ambrosia peruviana</i> Willd.....	5
Tamizaje fitoquímico	6
Metabolitos primarios y secundarios.....	6
Diferencia entre Metabolitos primarios y Metabolitos secundarios.....	6
Función que cumplen los metabolitos secundarios en las plantas	7
Taninos	8
Clasificación.....	8
Taninos Hidrolizables	8
Taninos condensados.....	8
Función y propiedades de los taninos.....	9
Características químicas de los taninos.....	9
Métodos de extracción de taninos	10
• Infusión	10
• Decocción.....	10
• Maceración	10
Acido tánico	10
Diseño factorial.....	11
Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu	14
Espectrofotometría	14
Ley de Beer.....	16

Linealidad:	17
ANOVA	18
Diseño metodológico	20
Reactivos:	20
Materiales:	20
Equipos:	20
Preparación de soluciones.	21
Solución de Acetato de plomo 5%.	21
Solución de Tricloruro férrico al 5%.	21
Reactivo de Folin-Ciocalteu	21
Solución de Carbonato de sodio al 20% (m/v)	21
Recolección de la muestra:	21
Tratamiento de la muestra:	22
Reacción con acetato de plomo:	24
Ensayo de Cloruro férrico:	24
Resultados y Discusiones	26
Reacción con acetato de plomo	26
Ensayo de cloruro férrico	26
Cuantificación por espectrofotometría UV	27
Conclusión	40
Recomendaciones	41
Bibliografía	43
Anexo 1	46
Anexo 2	48
Anexo 3	50
Anexo 4	51
Anexo 5	53
Anexo 6	54



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Introducción

La *Ambrosia peruviana* Willd, conocida comúnmente en Nicaragua como altamiz, es una planta que se ha utilizado de generación en generación por las personas para aliviar diversos síntomas como un producto botánico para su consumo propio, siendo una planta ampliamente utilizada en Nicaragua, país en el que los conocimientos ancestrales son una fuente importante desde el punto de vista medicinal, por lo que deben ser documentados para conservar sus usos en generaciones venideras. (Mayorga Sánchez, Gutierrez Cáceres, & Rueda Pereira, 2007)

El altamiz posee propiedades antihipertensivas y diaforéticas, para calmar espasmos, desintoxicantes, propiedades para reducir la fiebre y su uso para tratar trastornos menstruales, propiedades que se pueden relacionar con la presencia taninos. Los taninos poseen capacidades para ser empleados en la medicina como agentes antidiarreicos, homeostáticos y como antihemorroidales (Cheng HY, Lin CC, 2002) también han sido reportados por tener propiedades antivirales (Lü et al., 2004), antibacterianas (Akiyama et al., 2001), efectos antiparasitarios (Kolodziej & Kiderlen, 2005), y capacidad antioxidante (Isaza M, 2007).

El consumo de infusiones preparadas a base de hojas de esta planta y sus propiedades medicinales pueden asociarse a la presencia de taninos en las mismas, ya que Guauque, Castaño y Gómez (2010) desarrollaron el estudio “Detección de metabolitos secundarios en *Ambrosia peruviana* Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica” en el cual se realizó un tamizaje fitoquímico preliminar para metabolitos secundarios donde las reacciones empleando cloruro férrico y con acetato de plomo dieron como resultado presencia en cantidad abundante para taninos en las hojas de la planta.(Guauque et al., 2010).

Por otro lado, Rengifo Zevallos (2018) investigó los principales metabolitos secundarios que estaban presentes en el extracto etanólico (EE) de hojas de *Desmodium Vargasianum* Schubert “pie de perro”. En el tamizaje fitoquímico realizado en el extracto



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

etanólico mediante la cromatografía de capa fina se encontró presencia de compuestos fenólicos tales como flavonoides, taninos y alcaloides, luego se realizó la cuantificación de flavonoides y taninos totales por espectrofotometría UV-VIS, encontrándose flavonoides totales de 202.05 ± 1.10 mg QE/g EE y taninos totales de 178.50 ± 0.75 mg ATE/g EE. (Rengifo Zevallos, 2018)

El desarrollo de esta investigación es de tipo experimental. Los ensayos de extracción, identificación y cuantificación se realizaron en los laboratorios de docencia del Departamento de Química de la Facultad de Ciencias y Tecnología de la bicentenario UNAN-León.

Para conocer las condiciones ancestrales de preparación de las bebidas a base de hojas de altamiz, se realizó una encuesta a la población del casco urbano de Chichigalpa (ver Anexo 5), encontrándose que la cantidad de hojas, las condiciones físicas de las hojas y la temperatura del agua, son los factores que varían en dichas bebidas (ver Anexo 6). Por lo cual, se decidió realizar un análisis factorial a dos niveles para establecer el número de experimentos para estas tres variables. Pruebas cualitativas con tricloruro férrico y acetato de plomo fueron aplicadas a las combinaciones obtenidas, donde las positivas se analizaron por el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu expresando el resultado como gramos de ácido tánico equivalente a taninos por 100 gramos de hojas frescas, a fin de encontrar la forma óptima de extraer taninos en estas bebidas.

Una vez conocido el punto óptimo, en función de la concentración de taninos y las condiciones ancestrales, se comparó con los resultados obtenidos cuando se simularon condiciones comerciales mediante un análisis estadístico, para determinar si es viable la comercialización de hojas de altamiz secas y trituradas en la cantidad más común establecida comercialmente.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Objetivos:

Objetivo general:

Comparar el contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta.

Objetivos específicos:

- Emplear diseño factorial para evaluar las variables objeto de estudio.
- Utilizar reacciones de complejación y precipitación para la identificación de taninos.
- Aplicar la espectrofotometría UV para la optimización de la extracción de taninos en condiciones ancestrales.
- Realizar la comparación estadística de los resultados espectrofotométricos entre el óptimo de la preparación ancestral con la comercial.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Marco teórico

***Ambrosia peruviana* Willd**

La *Ambrosia peruviana* Willd, conocida comúnmente en Nicaragua como altamiz, se encuentra distribuida en la América Tropical desde México hasta Perú, incluyendo la Cuenca del Caribe. (Gupta et al., 1990)

Es una planta anual, muy aromática, erecta, puede medir hasta 2 m de altura y está cubierta de largas vellosidades. Posee hojas alternas u opuestas que tienen entre 3 a 10 cm de largo como se muestra en Figura 1, bipinnatífidas, con flores masculinas verdosas en largos capítulos terminales y flores femeninas en las axilas de las hojas. Con fruto en aquenio ovoide, anguloso y espinoso, de 3 a 4 mm de largo. (Gupta et al., 1990)



Figura 1

Hojas de *ambrosia peruviana* Willd

La *Ambrosia peruviana* Willd ha sido estudiada por poseer propiedades como hipotensor, antiespasmódico, depurativo, diaforético y aliviar trastornos menstruales (León Hernández & Valero Ricardo Gil Otaiza, 2002), dolor del cuerpo, fiebre, dolor de cabeza,



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

úlceras, manchas de la piel, várices, cicatrices (Otaiza et al., 2006), dolor de estómago y cólicos (aire). (Gupta et al., 1990)

Tamizaje fitoquímico

Una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica es el tamizaje fitoquímico o “screening” fitoquímico el cual permite identificar cualitativamente los principales constituyentes químicos que pueden estar presentes en las plantas. El tamizaje fitoquímico consiste en la extracción de los compuestos químicos presente en la planta mediante la implementación de solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración y precipitación para su adecuada identificación.(Salazar & Jaime, 2011)

Metabolitos primarios y secundarios

Todos los organismos vivos contienen en su estructura compuestos químicos principalmente orgánicos los cuales, con resultados de la actividad metabólica de la planta, es por ello que son llamados metabolitos.(Erazo et al., 2002)

Los metabolitos se pueden dividir en dos tipos: Metabolitos Primarios y Metabolitos secundarios.

Diferencia entre Metabolitos primarios y Metabolitos secundarios

Los metabolitos primarios son denominados así porque son los principales responsables del crecimiento, desarrollo, supervivencia y reproducción de las plantas; en donde podemos encontrar proteínas, los tipos más comunes de carbohidratos, lípidos y los ácidos nucleicos. (Erazo et al., 2002)

En cambio, los metabolitos secundarios están presentes generalmente en pequeñas partes y de manera restringida, la ausencia de metabolitos secundarios no impide la supervivencia, por lo tanto, no son primordiales para la vida como tal, aunque esto no significa que ellos no puedan ser de utilidad para el organismo (Tabla 1). (Erazo et al., 2002)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Tabla 1

Diferencias entre metabolitos primarios y secundarios

Criterio	Metabolitos Primarios	Metabolitos Secundarios
Causa	Productos del metabolismo general	Productos del metabolismo especial
Obtención	Obtenidos de plantas y animales	Biosintetizados a partir del metabolismo primario
Localización	Distribución taxonómica no restringida	Distribución taxonómica restringida
Utilidad	Indispensables para la vida	No indispensables para la vida
Clasificación	Aminoácidos de proteínas, Monosacáridos, Glucósidos entre otros	Saponinas, Alcaloides, Taninos, Lípidos, Flavonoides entre otros

Función que cumplen los metabolitos secundarios en las plantas

Las plantas al igual que otros seres vivos como las algas, las bacterias y los hongos implementan funciones fisiológicas en las que se dan rutas metabólicas las cuales son de gran importancia y fundamentales para que el organismo se conserve con vida, las plantas al realizar estas rutas metabólicas producen variedad de metabolitos secundarios. Todas las sustancias obtenidas por los seres humanos de las plantas son producto de los metabolitos secundarios. (Colina, 2016)

Los metabolitos secundarios cumplen funciones importantes en las plantas por ejemplo en su mecanismo de defensa en la contención de daños causados por microorganismos patógenos e insectos, ante la presencia de fenómenos de alopatía en las plantas, los metabolitos secundarios también son responsable de facilitar la polinización y los diversos colores de las flores.(Almaraz-Abarca et al., 2006)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Taninos

Los taninos se pueden definir como compuestos fenólicos que son de origen vegetal con masa moleculares relativamente elevadas y propiedades astringentes. Se pueden encontrar en diferentes partes de la planta como puede ser hoja, tallo, raíz, corteza, semilla. (Ochoa et al., 2018)

Clasificación

Según Freudenberg los taninos se pueden clasificar fundamentándose en el tipo de estructura base que el tanino presente, dando así lugar a dos clases: Taninos Hidrolizables y Taninos Condensados, su estructura se muestra en Anexo 1. (Colina, 2016)

Taninos Hidrolizables

Los taninos hidrolizables son poliésteres que se encuentran compuestos por un polialcohol o un azúcar y por ácidos orgánicos, el azúcar principal que contienen es la glucosa, pero en otras ocasiones se pueden encontrar la fructuosa, xilosa y sacarosa. En dependencia del ácido utilizado para su hidrólisis se pueden encontrar los elagitaninos los cuales son derivados del ácido elágico y también los galotaninos (Anexo 1) los cuales son derivados del ácido gálico, estos compuestos producen reacción de coloración al hacerse reaccionar con FeCl_3 dando como resultado la aparición de coloración azul. (Avello, 2016).

Taninos condensados

Los taninos condensados o proantocianidinas (Anexo 1) fueron definidos por Haslam como “polímeros donde la unidad estructural es el núcleo de flavan-3-ol, tales como catequina y/o epicatequina y epigallocatequina. Formados por la unión de dos a seis unidades, los cuales se unen en posición del carbono 4 y 8” (Avello, 2016). Al reaccionar con FeCl_3 dan como resultado coloración verde. (Erazo et al., 2002)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Función y propiedades de los taninos.

Los taninos funcionan en las plantas como parte de su mecanismo de defensa, pero en el ser humano actúan de diferentes maneras benéficas: como bloqueantes de la generación de endotelina-1 causante de la vasoconstricción; antioxidantes y antimicrobianos externos en lesiones e inflamaciones de la piel, y reductores de enfermedades crónicas. (Ochoa et al., 2018)

Debido a su constitución química muy variable, los taninos presentan un cierto número de propiedades (Céspedes Loayza & Muñoz Guillen, 2013):

- Son compuestos no cristalizables, de naturaleza coloidal y dotados de propiedades astringentes.
- Solubles en agua y alcohol; sus soluciones acuosas tienen carácter ligeramente ácido.
- En contacto con sales de hierro producen combinaciones fuertemente coloreadas en azul o verde oscuros y más o menos solubles en agua.
- Sus soluciones son precipitadas por muchas sales metálicas (hierro, cobre, plomo, estaño, mercurio, etc.) y forman compuestos pardos con soluciones de dicromato de potasio y ácido crómico.
- Sus soluciones son precipitadas por diversas sustancias básicas tales como: colorantes orgánicos básicos, el agua de cal, el agua de barita, los alcaloides, etc.

Características químicas de los taninos.

Los taninos químicamente se caracterizan por su contenido de grupos funcionales fenólicos. En ocasiones, están en forma de glucósidos, con diferentes azúcares en su molécula, también en otros están exentos de ellos, son solubles en agua e insolubles en la mayoría de los solventes orgánicos y forman soluciones coloidales y no son cristalizables.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Métodos de extracción de taninos

Debido al carácter polar de los taninos se extraen por lo general con mezclas de alcoholes y agua en diferentes proporciones. Aunque, la mezcla más utilizada es acetona-agua (70:30) o isopropanol-agua (65:35) utilizando ultrasonido en cuatro extracciones. También existen otros métodos no convencionales para la extracción, citados a continuación: (Cespedes Loayza & Muñoz Guillen, 2013)

- **Infusión**

Se pesa una cantidad conocida de muestra, se coloca en beaker y posteriormente se vierte cierta cantidad de agua hirviendo sobre la muestra y se tapa por varios minutos, obteniéndose el extracto acuoso (infusión) que contiene los metabolitos solubles en éste como los flavonoides totales, taninos entre otros.

- **Decocción**

Se pesa una cantidad conocida de muestra en un beaker para agregarle determinada cantidad de agua, se lleva a ebullición obteniéndose el extracto acuoso que contiene los metabolitos solubles en éste, como los flavonoides totales, taninos entre otros.

- **Maceración**

Se tritura una cantidad conocida de muestra cruda en un mortero, se agrega agua a la muestra en un recipiente cerrado y se deja por algunos días a temperatura ambiente. Pasados los días se filtra obteniendo un extracto.

Acido tánico

El ácido tánico (AT), “es un compuesto polifenólico no es un solo compuesto homogéneo, si no una mezcla de esteres de ácido gálico con glucosa (ver Anexo 1); por lo tanto, la composición de su extracto varía según la fuente a partir de la cual se prepara. El tanino de las nueces de agallas chinas tiene exclusivamente octagalóíglucosa y nonagalóíglucosa, y por hidrólisis da metilgalato y 1,2,3,4,6- pentagalóíglucosa, en comparación con el tanino turco mezcla de hexagalóíglucosa o heptagalóíglucosa, que



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

por hidrólisis forma metilgalato y una mezcla de 1,2,3,6 y 1,3,4,6- tetragaloíglucosa. Ambos tipos de ácido tánicos producen por hidrólisis más suave metil m-trigaloílo en cada uno de ellos” (Márquez Arcia Tania Angélica, 2010), posee peso molecular de 1,701.2 g/mol, Cas: 1401-5514 y es parte de los taninos hidrolizables. Son moléculas polihidroxiladas (polifenoles) las cuales forman complejos que son insolubles con polisacáridos y proteínas, son responsables de la propiedad astringente en los alimentos que son ricos en taninos.

El ácido tánico se puede obtener de forma natural ya que es encontrado en las hojas y tallos de las plantas o por síntesis química, y es utilizado en los sectores farmacéuticos, industrias alimenticias como aditivo, y en los procesos de curtiembres, como agente principal de la tinción del cuero al unirse con las proteínas de la piel.(Sosa Verónica et al., 21 C.E.)

El ácido gálico es un ácido orgánico conocido también como ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico (ver Anexo 1), que se encuentra en las agallas, en las hojas de té, en la corteza de roble y otras plantas. Su fórmula química es $C_6H_2(OH)_3COOH$. El ácido gálico se encuentra tanto en su forma libre como formando parte de taninos. Las sales y los ésteres del ácido gálico son llamados galatos. Su nombre se refiere a las agallas donde se lo encuentra y no al elemento galio. Tiene usos en la industria farmacéutico como patrón para determinar el contenido de fenoles de diversos analitos mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu; los resultados son representados como equivalentes de ácido gálico. También se puede utilizar para sintetizar el alcaloide alucinógeno mescalina o 3, 4, 5-trimetoxifenetilamina. (Márquez Arcia Tania Angélica, 2010)

Diseño factorial

Un diseño completo de 2^k factores describe los experimentos más adecuados para averiguar qué k factores influyen en la respuesta simultáneamente y para averiguar si interactúan entre sí. Estos experimentos están planificados de tal manera que varios factores cambien a la vez, pero se evita que cambien siempre en la misma dirección. Debido a que no hay factores asociados, se eliminan los experimentos redundantes.



Además, los experimentos se complementan de tal forma que la información requerida se obtiene combinando las respuestas de todos. Esto permite obtener información con un mínimo de pruebas (por tanto, el menor costo) y con la menor incertidumbre posible (debido a que los errores aleatorios de las respuestas se promedian). De tal manera que las respuestas pueden llevar a determinar el óptimo en el proceso estudiado o acercarse al óptimo verdadero. (Ferré, 2002; Miller & Miller, 2002)

Para un diseño factorial 2^3 donde se encuentran en estudio tres factores A, B y C, cada uno con dos niveles. Este diseño se conoce como diseño factorial 2^3 , estos factores con ocho combinaciones de tratamientos que pueden representarse gráficamente mediante un cubo. Existen tres tipos de notaciones distintas que se usan para las corridas o ejecuciones en el diseño 2^k (Pulido et al., 2012):

1. La notación "+, -", llamada "geométrica".
2. Uso de letras minúsculas para identificar las combinaciones de tratamientos.
3. Los dígitos 1 y -1 para denotar los niveles alto y bajo del factor, respectivamente.

El modelo estadístico para este diseño experimental considera la interacción entre los factores involucrados en el análisis, la ecuación para este modelo se muestra a continuación (Pulido et al., 2012):

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + \alpha\beta_{ij} + \alpha\gamma_{ik} + \beta\gamma_{jk} + \alpha\beta\gamma_{ijk} + \epsilon_{ijk}$$

Donde:

μ es la media general del experimento.

α_i es el efecto debido al i-ésimo nivel del factor A.

β_j es el efecto del j-ésimo nivel del factor B.

γ_k es el efecto del k-ésimo nivel del factor C.

$\alpha\beta_{ij}$ representa el efecto de interacción de la combinación de ij.

$\alpha\gamma_{ik}$ representa el efecto de interacción de la combinación ik.

$\beta\gamma_{jk}$ representa el efecto de interacción de combinación de jk.

$\alpha\beta\gamma_{ijk}$ representa el efecto de interacción de la combinación ijk.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

ϵ_{ijk} es el error aleatorio que, se supone, sigue una distribución normal con $m=0$ y $s^2=$ Constante además de que son independientes entre sí.

Para establecer la influencia de los factores analizados en la variable de respuesta será necesario probar las siguientes hipótesis de trabajo (Pulido et al., 2012):

Para los efectos del factor A:

$$H_0 : \alpha_i = \alpha_j = 0$$

$$H_1 : \alpha_i \neq \alpha_j \neq 0$$

Para los efectos del factor B:

$$H_0 : \beta_i = \beta_j = 0$$

$$H_1 : \beta_i \neq \beta_j \neq 0$$

Para los efectos del factor C:

$$H_0 : \gamma_i = \gamma_j = 0$$

$$H_1 : \gamma_i \neq \gamma_j \neq 0$$

Para la interpretación de resultados del análisis factorial se completa los siguientes pasos (Pulido et al., 2012):

1. Determinar las diferencias entre la media de los grupos son significativas: se compara el valor de p con el nivel de significancia para analizar la hipótesis nula, esta nos indica las medias de la población son iguales. El nivel de significancia (denotado como α ó alfa) es por lo general de 0.05, indicando un riesgo de 5% de concluir que existe una diferencia cuando no hay una diferencia real. Por lo tanto, si $p \leq \alpha$ las diferencias entre alguna de las medias son estadísticamente significativas; si $p > \alpha$ las diferencias entre las medias no son estadísticamente significativas.
2. Examinar la media de los grupos: las gráficas de intervalo para mostrar la media y el intervalo de confianza para cada grupo, por lo tanto, cada intervalo es de 95% de la media de un grupo el cual estará dentro del intervalo de confianza.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

3. Comparar la media de los grupos: si el valor de p de un factor es menor que el nivel de significancia, sabrá que algunas de las medias de los grupos son diferentes.
4. Determinar si el modelo cumple con los supuestos del análisis: las gráficas de residuo como ayuda para determinar si el modelo es adecuado y si cumple con los supuestos del análisis, si no se cumplen el modelo no podría ajustarse adecuadamente a los datos.

Determinación de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu

El método Folin-Ciocalteu está basado en la capacidad que poseen los fenoles de reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu reacciona con cualquier especie de fenol por contener tungstato sódico y molibdato, los cuales forman complejos fosfotúngstico-fosfomolibdico (ver Anexo 2). Los complejos fosfotúngstico-fosfomolibdico se reducen en óxidos debido a la transferencia de electrones en pH básico, formándose así cromógenos de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}) de color azul intenso, donde la intensidad del color azul es proporcional a la cantidad de grupos hidroxilos presentes. Estos compuestos pueden ser cuantificados e identificados por medio de espectrofotometría. (Colina, 2016).

Espectrofotometría

La espectrofotometría UV-Visible es una técnica analítica que tiene como objetivo principal determinar la concentración de un compuesto en solución. Su principio se basa en la absorción de radiación electromagnética que tienen las moléculas y a su vez la cantidad de luz absorbida por las mismas depende de forma lineal de su concentración. (Colina, 2016)

Las longitudes de onda de radiación que pueden absorber las moléculas y su eficiencia de absorción dependen de la estructura atómica y las condiciones ambientales, como pH, temperatura, fuerza iónica, esta técnica es utilizada para la detección de grupos funcionales, detección de impureza, análisis cuantitativos, etc. (Clingsmith, 1984)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

La espectroscopia se encarga de medir la atenuación de un haz de luz después de su paso por una muestra, cuando este pasa sobre una sustancia coloreada una porción de las longitudes de este rango es absorbida mientras el restante de longitudes de onda es reflejado; este rango de longitudes realizada por molécula produce una transición de un nivel de baja energía a un nivel de mayor energía.

El espectrofotómetro está compuesto por una fuente de luz (bombilla) la cual produce luz blanca. La primera rendija selecciona un rayo que contiene todas las frecuencias emitidas. Este rayo pasa a través de un prisma de vidrio que descompone la luz blanca en sus diferentes frecuencias (del rojo al violeta). Una segunda rendija selecciona una de las frecuencias (luz monocromática) que incidirá sobre la cubeta que contiene la muestra. Al conjunto del prisma y segunda rendija se la denomina monocromador.

El rayo monocromático que atraviesa la muestra incide sobre el detector, que transfiere los datos a un sistema informático donde se genera el espectro. Si la frecuencia seleccionada en la segunda rendija no es absorbida por la muestra se produce un punto de la línea base del espectro. Cuando la frecuencia de la radiación es adecuada para producir una transición (vibracional, electrónica...) se observa un pico de absorción en el espectro, (Nieves Abril Díaz, 2019), en la Figura 2 se muestra el esquema general de un espectrofotómetro.

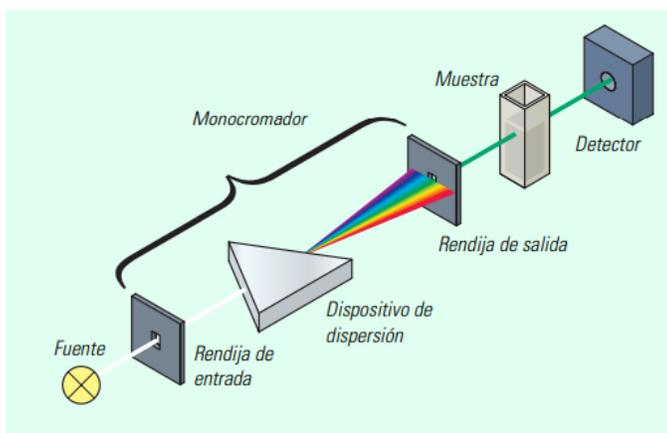


Figura 2

Esquema general de un espectrofotómetro



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Ley de Beer

La ley de Beer establece que “Si 100 fotones de luz entran en una cubeta y sólo 50 salen por el otro lado, la transmitancia es 0.5, o del 50 %”. La ley de Beer se expresa en términos de la concentración, es decir que la cantidad de luz absorbida por las muestras es proporcional al número de moléculas que absorben el haz de luz que es emitido. Generalmente se piensa que Lambert (1760) formuló la primera ecuación matemática sobre este efecto, aunque ahora parece que se le adelantó Bouguer en 1729.(Owen T., 2000)

La expresión matemática es:

$$T = I/I_{00} = e^{-kb}$$

Donde:

I_0 : es la intensidad incidente

I : es la intensidad transmitida

e : es la base de los logaritmos naturales

k : coeficiente de extinción molar.

b : es el paso óptico (normalmente en centímetros).

La ley de Beer es idéntica a la ley de Bouguer, excepto porque está se expresa en términos de la concentración. La cantidad de luz absorbida es proporcional al número de moléculas absorbentes por las que pasa la luz.

Combinando las dos leyes se obtiene la ley Beer-Bouguer-Lambert:

$$T = I/I_0 = e^{-kbc}$$

Donde:

c : es la concentración de las especies absorbentes (normalmente expresada en gramos por litro o miligramos por litro).



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Esta ecuación puede transformarse en una expresión lineal tomando el logaritmo y, normalmente, se expresa en la forma decádica:

$$A = -\log T = -\log (I/I_0) = \log(I_0/I) = \epsilon bc \therefore$$

$$A = \epsilon bc$$

Donde:

ϵ : Representa al coeficiente de absortividad molar

b: Longitud del trayecto óptico

c: Concentración de la muestra

Linealidad:

Se define como linealidad a la capacidad que posee el método analítico de dar resultados directamente proporcionales a la cantidad de analito o concentración de analito en el rango de aceptación definido. Se utiliza frecuentemente como criterio de linealidad un coeficiente de correlación (r^2), de 0.99. Sin embargo, no solo basta con este criterio para demostrar que existe una relación lineal, por lo que cabe considerar que se puede utilizar un método que no permita establecer un coeficiente de correlación tan alto como el 0.99 pero permita cumplir los objetivos definidos. (Owen T., 2000)

La recta de calibración presenta la siguiente ecuación:

$$y = a + bx$$

Donde:

y: la respuesta experimental, en este caso absorbancia

a: ordenada del origen

b: pendiente

x: la concentración



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

ANOVA

ANOVA es un análisis de varianza en la cual prueba una hipótesis de dos o más poblaciones iguales, evalúa la importancia de estos en uno o más factores al comparar las medidas de las variables de respuesta en diferentes niveles de los factores. La hipótesis nula decreta que todas las medidas de la población serán iguales y la hipótesis alternativa decreta que al menos una será diferente.

Para realizar este análisis se debe de contar con una variable de repuesta que sea continua y al menos un factor categórico con el que contenga dos o más niveles. Los análisis necesitan de datos poblacionales que sigan una distribución que sea aproximadamente normal con varianzas iguales entre los niveles de factores.

En ANOVA se debe suponer que las observaciones son normales, independientes y con la misma varianza para cada grupo, algunas conllevan mayores riesgos tal como (Mongay-Fernández, 2005):

- En la prueba de contraste la falta de normalidad tendrá un efecto mínimo.
- La falta de independencia es grave, por lo tanto, se tiene que considerar la aplicación de otras técnicas estadísticas.

Todas las pruebas de homocedasticidad contrastan la hipótesis nula, de que la varianza de una variable X en los K grupos es la misma (Mongay-Fernández, 2005):

$$H_0: S_1^2 = S_2^2 = S_3^2 = \dots = S_k^2$$

El valor de significancia asociado al estadístico de contraste es menor α se rechazará la hipótesis nula al nivel de significación α .



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

ANOVA de un factor es una técnica estadística que señala si dos variables (una independiente y otra dependiente) están relacionadas entre sí, en base a si existe diferencia en las categorías o grupos entre las variables. (Miller & Miller, 2002).

ANOVA utiliza la prueba F para evaluar estadísticamente la igualdad de las medias. Las estadísticas F se basan en la proporción de cuadrados medios. El término “cuadrados medios”, es una estimación de la varianza de la población que explica los grados de libertad (GL) utilizados para calcular esa estimación. Se puede utilizar para evaluar la significancia general de un modelo de regresión, para comparar el ajuste de diferentes modelos, para probar términos de regresión específicos y para evaluar la igualdad de las medias (Miller & Miller, 2002).

Para utilizar la prueba F para determinar si las medias de los grupos son iguales, solo se necesita incluir las varianzas correctas en la relación. En un ANOVA de un solo factor, la estadística F es una proporción (Miller & Miller, 2002):

F = variación entre las medias de las muestras / variación dentro de las muestras

Para determinar si la variabilidad entre las medias de los grupos es mayor que la variabilidad de las observaciones dentro de los grupos. Si ese cociente es lo suficientemente grande, se puede concluir que no todas las medias son iguales.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Diseño metodológico

Reactivos:

- Acido tánico, 95%, Thermo Scientific Chemicals
- Agua destilada
- Ácido acético, 99%, Fisher Chemical
- Acetato de plomo, Fisher Chemical
- Tricloruro férrico, Fisher Chemical
- Etanol 70%, CCN
- Tungstato de sodio dihidratado, 99%, Thermo Scientific Chemicals
- Molibdato de sodio dihidratado, 100%, Fisher Chemical
- Carbonato de sodio, Fisher Chemical

Materiales:

- Beaker 250mL PYREX
- Bandeja
- Matraz aforado 5 ml \pm 0.015mL, Fisherbrand™
- Matraz aforado 10 ml \pm 0.015mL, Fisherbrand™
- Gotero, Fisherbrand™
- Tubos de ensayo, Fisherbrand™
- Termómetro de inmersión de -10 a +110, Eco Therm Fisherbrand™
- Espátula, Fisherbrand™
- Gradilla, Fisherbrand™
- Probeta 100mL, Thermo Scientific™
- Pizeta, Fisherbrand™
- Pipeta 1mL \pm 0.02mL, Fisherbrand™
- Pipeta 50mL \pm 0.02mL, Fisherbrand™

Equipos:

- Balanza analítica, Sartorius GMBH gottingen (AC210S) d= 0.0001g



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

- Espectrofotómetro UV-Vis, Thermo Scientific Genesis 10s UV-Vis
- Procesador de alimentos, Sankey
- Placa calefactora, Fisher Scientific Isotemp

Preparación de soluciones.

Solución de Acetato de plomo 5%.

Pesar en la balanza analítica 5 g de acetato de plomo y disolver en un matraz aforado de 100mL hasta la línea de aforo.

Solución de Tricloruro férrico al 5%.

Pesar en la balanza analítica 5 g de tricloruro férrico y disolver con etanol 70% en un matraz aforado de 100mL hasta la línea de aforo.

Reactivo de Folin-Ciocalteu

Pesar en la balanza analítica 1.14 g de tungstato de sodio y 1.78 g de molibdato de sodio y diluir en 700 mL de agua destilada, conservar el reactivo en envase color ámbar.

Solución de Carbonato de sodio al 20% (m/v)

Pesar en la balanza analítica 5 g de Na_2CO_3 y diluir con 25 mL de agua destilada.

Recolección de la muestra:

Como instrumento de recolección de datos se utilizó una encuesta, se entrevistó a 20 personas de familias en cuyos hogares poseen plantas de altamiz, el formato de la encuesta se presenta en Anexo 5. A través de la encuesta se conoció que las personas preparan las bebidas medicinales de tres maneras: una forma es frotando a mano las hojas con agua a temperatura ambiente, otra forma es frotando a mano las hojas a temperatura ambiente y luego se lleva a decocción durante cinco minutos, y la más común, poner a ebullición en agua durante cinco minutos hojas enteras, ver resultados de la encuesta en Anexo 6.



La identificación taxonómica de las hojas de altamiz recolectadas al azar para verificar que se trata de la especie *Ambrosia peruviana* Willd, se llevó a cabo en el herbario “Miguel Ramírez Goyena” de la UNAN-León, ver Anexo 3.

Tratamiento de la muestra:

Las hojas frescas recolectadas fueron lavadas con agua a temperatura ambiente para eliminar restos de tierra y polvo. La muestra total fue dividida en dos partes. Una parte de las hojas frescas previamente limpias fueron puestas dentro de una bolsa de papel (kraft) por 4 días y de este modo eliminar la humedad contenida en ellas y luego proceder a realizar su pulverización, para su posterior proceso de extracción de taninos. La otra parte de hojas frescas, fue sometida directamente al proceso de extracción de taninos (ver Anexo 4).

El análisis factorial es una técnica estadística multivariante utilizada para reducir la dimensionalidad de un conjunto de variables y de esta manera explorar las relaciones subyacentes entre ellas. Su objetivo principal es identificar los factores subyacentes que explican la variabilidad observada en los datos. Se realizó un análisis factorial con el propósito de valorar los posibles efectos que producía la variación de cantidad de muestra, temperatura y estado físico de la muestra en las bebidas, y así de esta manera establecer los factores que influyen o se correlacionan al momento de realizar la extracción de taninos esto de acuerdo a los resultados de la encuesta.

Tabla 2

Factores a analizar en el estudio.

X	Y	Z	Niveles
Cantidad de muestra	Temperatura del agua	Estado físico de la muestra	
7 hojas	TA	Frotada entre manos	-
11 hojas	100°C	Entera	+



En la Tabla 2 se presenta la identificación de los factores: cantidad de hojas denominado factor X, temperatura del agua a la cual se preparará la bebida llamado factor Y y el estado físico de la hoja se nombró factor Z. Se determinó el número de experimentos en función de la Ecuación 1, donde los factores de estudio se representan por “n” y, “2” indica los niveles a considerar para cada factor dando como resultados 8 experimentos a realizar.

$$2^n = 2^3 = 8 \quad \text{Ecuación 1}$$

A partir del análisis factorial a dos niveles se determinaron las combinaciones en las diferentes condiciones, que nos proporcionara la información sobre los efectos significativos en la extracción de taninos en las bebidas preparadas, lo que se muestra en Tabla 3.

Tabla 3

Combinaciones de los tres factores a dos niveles según el análisis factorial 2^3

Nº experimento	X	Y	Z
1	7	TA	Frotada entre manos
2	11	TA	Frotada entre manos
3	7	100°C	Frotada entre manos
4	11	100°C	Frotada entre manos
5	7	TA	Entera
6	11	TA	Entera
7	7	100°C	Entera
8	11	100°C	Entera

Nota: X=cantidad de hojas, Y=temperatura del agua, Z=estado físico de la muestra, TA=temperatura ambiente

Los extractos de los experimentos 3, 4, 7 y 8 se obtuvieron aplicando las combinaciones de los factores antes mencionados, con 50 mL de agua y llevados a decocción (100°C)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

por 5 min en un beaker de 250 mL. Para el caso de los extractos de los experimentos 1, 2, 5 y 6 se procedió de la misma manera, pero con agua a temperatura ambiente.

A los extractos obtenidos se les aplicó pruebas de complejación y precipitación con cloruro férrico (FeCl_3) y acetato de plomo ($\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$), respectivamente, para verificar la presencia de taninos de forma cualitativa, definiendo así los que resultan positivo o negativo.

Reacción con acetato de plomo: A 1 mL del extracto se añade 1 mL de acetato de plomo 5%, se observa la presencia de precipitado, este se separa y se le añaden 5 gotas de ácido acético diluido y al filtrado se le agregan 2 gotas de cloruro férrico.

“Todos los taninos naturales precipitan completamente con el acetato de plomo en solución neutra, de modo que el filtrado no de reacción con una sal férrica. El precipitado de taninos catéquicos o flobataninos, se disuelve en ácido acético diluido, mientras que el precipitado de los galotaninos es total o parcialmente insoluble”.(Colina, 2016)

Ensayo de Cloruro férrico: A 0.5 mL del extracto añaden 3 gotas de solución de cloruro férrico al 5% en solución etanólica. La aparición de coloración verde-azul será positiva para taninos y una coloración rojo-vino indicará la presencia de compuestos fenólicos. (Ochoa et al., 2018)

Para la cuantificación de taninos en los extractos de las hojas de altamiz, se empleó el método de Folin-Ciocalteu y la técnica espectrofotométrica UV. Para ello, se pesó 1.0526 g de ácido tánico y se diluyó en un matraz aforado de 5 mL hasta aforo con agua destilada. Acto seguido, se tomó una alícuota de 2.5 mL y se llevó a aforo en un matraz aforado de 10 mL para obtener una solución de trabajo de 50 mg/L, a partir de la cual se prepararon los patrones (ver Anexo 4) para la construcción de la curva de calibración normal, que se muestran en la Tabla 4.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Tabla 4

Preparación de patrones de ácido tánico para la curva de calibración por espectrometría UV

Alícuota de solución de trabajo tomada (mL)	Concentración (mg/L)
0.0	Blanco
0.4	2
0.8	4
1.2	6
1.6	8
2.0	10

Los patrones de la curva de calibración se sometieron a la reacción de coloración de la siguiente manera: 1 mL de cada solución de patrones se transfirió a un matraz aforado de 10 mL, se añadió 6 mL de agua destilada, 0.5 mL de reactivo de Folin-Ciocalteu, y se dejó reposar por 1 minuto. Seguidamente, se adicionó 1.5 mL de Na_2CO_3 al 20% y se aforó con agua destilada dejando reposar 2 horas, antes de su lectura. Posteriormente, se procedió a realizar el análisis espectrofotométrico a las bebidas que resultaron positivos en las pruebas de complejación y precipitación para taninos, tomando una alícuota de 1 mL y se procedió de la misma manera que con la preparación de los patrones para la curva de calibración.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Resultados y Discusiones

Los extractos acuosos obtenidos de los ocho experimentos se sometieron a las reacciones de complejación y precipitación para determinar la presencia de taninos, los resultados se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5

Resultados de las reacciones de complejación y precipitación para la determinación cualitativa de taninos en los extractos de hojas de altamiz

Nº experimento	Reacción con cloruro férrico	Reacción con acetato de plomo
1	+	+
2	+	+
3	+	+
4	+	+
5	-	-
6	-	-
7	+	+
8	+	+

Nota: (-) Reacción Negativa para taninos y (+) Reacción Positiva para taninos

Reacción con acetato de plomo: a una alícuota de cada extracto se agregó el acetato de plomo, obteniéndose un precipitado color marrón claro correspondiente a la formación de un complejo organometálico de plomo y una fase líquida incolora de ácido acético (ver Anexo 4), luego al separar el precipitado se le añadió ácido acético diluido, disolviéndose el precipitado lo que indicó presencia de taninos catéquicos o flobataninos y a la fase incolora se añadió cloruro férrico, tornándose esta de color ligeramente amarillo sin reacción alguna, dando como resultados positivos los experimentos 1, 2, 3, 4, 7 y 8.

Ensayo de cloruro férrico: los extractos al añadir el cloruro férrico se tornaron de color verde turquesa correspondiente a un complejo organometálico de hierro (ver Anexo 4)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

dando como resultado positivo para taninos los experimentos 1, 2, 3, 4, 7 y 8. (reacción en Anexo 2)

Por lo tanto, a las muestras que resultaron positivas (1, 2, 3, 4, 7 y 8) se analizaron por espectrofotometría UV para cuantificar la cantidad de taninos representados como ácido tánico.

Cuantificación por espectrofotometría UV

Previo a la cuantificación se llevó a cabo el barrido espectral de un patrón de ácido tánico 4 mg/L, obteniendo el máximo de absorción en 310 nm, para comprobar la presencia de ácido tánico en los extractos acuosos se realizó también un barrido espectral encontrándose en todos los casos superposición de los espectros de patrón y muestra (ver Figura 3), por lo tanto, se comprobó la selectividad del método para la determinación de ácido tánico en los extractos acuosos.

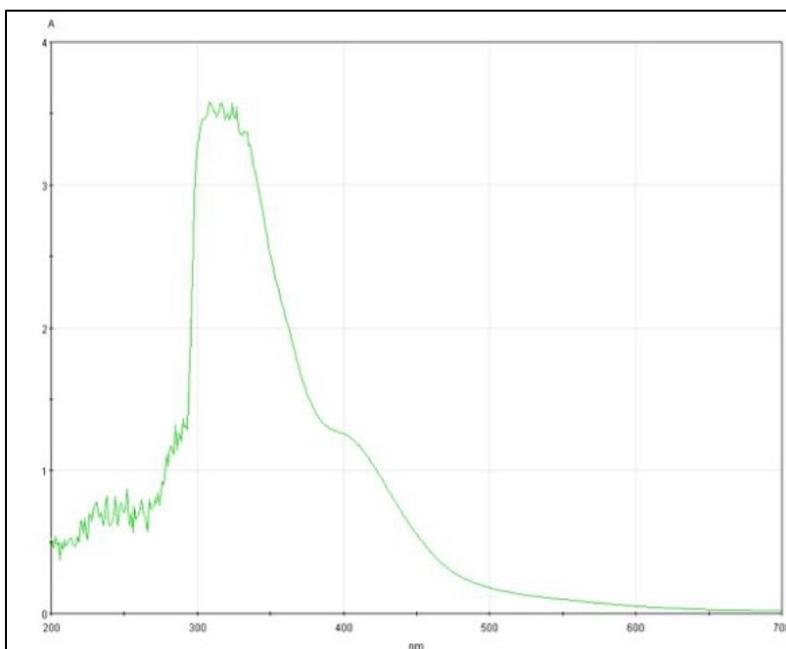


Figura 3

Barrido espectral de patrón de ácido tánico (4 mg/L) y extracto acuoso de hoja de altamiz.

Al realizar la lectura para la curva de calibración normal con los estándares del patrón de ácido tánico se obtuvieron los siguientes resultados mostrados en la Tabla 6:



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Tabla 6

Resultados de la curva de calibración de ácido tánico por espectrofotometría UV

Concentración (mg/L)	Absorbancia	Parámetros de regresión
0.2	0.633	a -0.171
0.4	1.320	b 3.72
0.6	1.919	r ² 0.995
0.8	2.852	
1.0	3.589	

En Tabla 6 se puede apreciar la correlación de las concentraciones y señales de los patrones de ácido tánico, cuyos parámetros de regresión indican buena linealidad, buena sensibilidad, en cuanto al valor del intercepto podemos decir que es de muy buena calidad ya que su valor es cercano al origen aportando una muy leve interferencia teniendo un efecto depresor de la señal, la cual se puede apreciar de manera clara en la Figura 4 donde se presenta la curva de calibración normal.

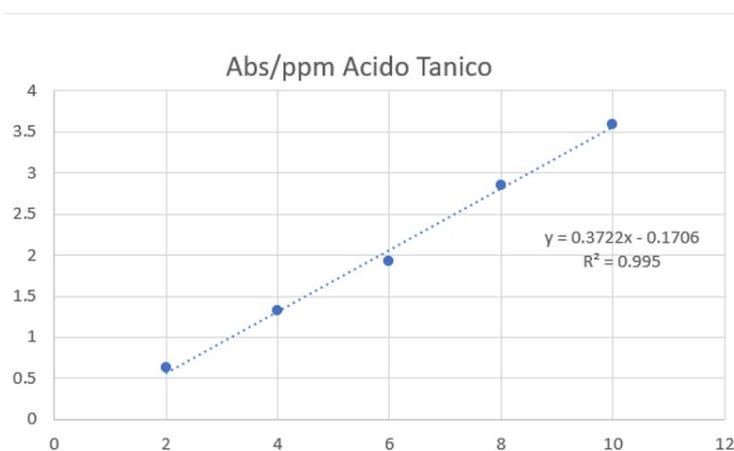


Figura 4

Curva de Calibración normal del ácido tánico



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

A continuación, se procedió a realizar el análisis espectrofotométrico a los extractos acuosos que resultaron positivos a la presencia de taninos en la prueba con acetato de plomo y cloruro férrico, el cual fue llevado a cabo siguiendo el mismo procedimiento que con los patrones para la curva de calibración. Se emplearon tres muestras para cuantificar taninos en función de la concentración de ácido tánico (mg AT/L). Los resultados correspondientes se ilustran en la Tabla 7.

Tabla 7

Concentración de ácido tánico (mg AT/L) en tres muestras de hojas de altamiz

N° Experimentos	Muestras		
	1	2	3
1	25.86	36.37	27.53
2	29.06	46.79	48.03
3	45.82	66.27	45.80
4	68.23	107.11	110.41
7	53.27	88.11	48.97
8	66.19	112.86	82.04

Los resultados de la Tabla 7 se convirtieron en miligramos de ácido tánico (g AT) por gramo de hojas frescas (HF) (mg_{AT}/g_{HF}) empleando las masas de las hojas de altamiz, según la Ecuación 2, con el objetivo de establecer una comparación entre los datos obtenidos en el estudio y la información que aparece en las etiquetas de los productos comercializados como tés. Los resultados de la conversión de unidades se presentan en la Tabla 8.

$$\text{Ecuación 2 } mg_{AT}/g_{HF} = \left[\frac{R_1 \times V_E}{(1000 \times m_{HF})} \right]$$

Donde:

R₁: Concentración calculada de AT (mg/L).

10: Factor de conversión de L a mL.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

VE: Volumen de extractante (50 mL)

m_{HF}: Masa de hojas frescas en gramos.

Tabla 8

Resultados de las concentraciones de AT (mg AT/g HF) para los ocho experimentos según los factores seleccionados (X, Y, Z)

<i>Experimento</i>	X	Y	Z	Concentración mg _{AT} / g _{HF}		
				1	2	3
1	7	TA	Frotada entre manos	0.57	0.80	0.61
2	11	TA	Frotada entre manos	0.58	0.93	0.96
3	7	100°C	Frotada entre manos	1.01	1.46	1.01
4	11	100°C	Frotada entre manos	1.36	2.14	2.20
5	7	TA	Entera	-	-	-
6	11	TA	Entera	-	-	-
7	7	100°C	Entera	1.17	1.94	1.08
8	11	100°C	Entera	1.32	2.25	1.64

Nota: X=cantidad de hojas, Y=temperatura del agua, Z=estado físico de la muestra, TA=temperatura ambiente

Estos resultados fueron analizados en una hoja de trabajo del programa Minitab® 18.1 para realizar la evaluación de los factores determinantes en el proceso de extracción de taninos simulando condiciones ancestrales de preparación de bebidas medicinales de acuerdo a información obtenida mediante la encuesta aplicada a los pobladores del casco urbano del municipio de Chichigalpa. En primer lugar, se obtuvieron los valores de significancia para cada parámetro del modelo de diseño factorial, los que se presentan en la Tabla 9.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Tabla 9

Análisis de varianza del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)

<i>Análisis de varianza</i>					
<i>Fuente</i>	<i>GL</i>	<i>SCA</i>	<i>MCA</i>	<i>Valor F</i>	<i>Valor p</i>
Modelo	7	7.7394	1.10485	8.97	0.000
Lineal	3	7.02922	0.34307	19.02	0.000
Cant. Hoja	1	0.1703	0.17003	1.38	0.257
Temp	1	6.42721	6.42721	52.18	0.000
Est. Muestra	1	0.43198	0.43198	3.51	0.079
Interacciones de 2 términos	3	0.53469	0.7823	1.45	0.266
Cant. Hoja*Temp	1	0.04506	0.04506	0.37	0.554
Cant. Hoja*Est. Muestra	1	0.0196	0.0196	0.16	0.698
Temp*Est. Muestra	1	0.47037	0.47037	3.82	0.068
Interacciones de 3 términos	1	0.17003	0.17003	1.38	0.257
Cant. Hoja*Temp*Est. Muestra	1	0.17003	0.17003	1.38	0.257
Error	16	1.97074	0.12317		
Total	23	9.70468			

Nota: GL=grados de libertad, SCA=sumas ajustadas de los cuadrados, MCA= cuadrados medios ajustados

De acuerdo al criterio de probabilidad del valor p este debe ser menor a 0.05, ya que un nivel de significancia de 0.05 indica un riesgo de 5% de concluir que los datos no siguen una distribución normal, observar que el valor p del modelo lineal es cero, lo que significa que el modelo explica la variación en la respuesta, por lo tanto, el modelo es adecuado. El valor p de la temperatura es cero, por lo tanto, es un valor significativo en el cual se encuentra en la región óptima.

Los coeficientes del modelo lineal calculados por Minitab® se muestran en la Tabla 10. De acuerdo al criterio el valor p tiene que ser menor a 0.05, se puede observar que el



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

valor p de la temperatura es cero, por lo tanto, es un valor significativo en el cual se encuentra en la región óptima y se puede aplicar un modelo de segundo orden.

Tabla 10

Coefficientes del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)

Término	Coef	EEC	Valor T	Valor p	FIV
Constante	0.8883	0.0716	12.4	0.000	
Cant. Hoja	-0.0842	0.0716	-1.17	0.257	1.00
Temp	-0.5175	0.0716	-7.22	0.000	1.00
Est. Muestra	0.1342	0.0716	1.87	0.079	1.00
Cant. Hoja*Temp	0.0433	0.0716	0.6	0.554	1.00
Cant. Hoja*Est. Muestra	-0.0283	0.0716	-0.4	0.698	1.00
Temp*Est. Muestra	0.1400	0.0716	1.95	0.698	1.00
Cant. Hoja*Temp*Est. Muestra	0.0842	0.0716	1.17	0.257	1.00

Nota: Coef=coeficiente, EEC=error estándar del coeficiente, FIV=factor de inflación de la varianza

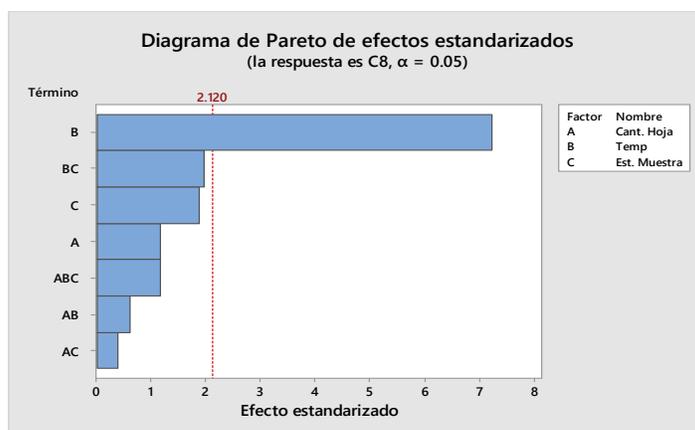


Figura 5

Diagrama de Pareto de efectos estandarizados del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)



En la Figura 5 se muestran las combinaciones o factores por orden que va de mayor a menor. Los factores que sobrepasan la línea de referencia del diagrama de Pareto de los efectos estandarizados vs. factores e interacciones que al sobrepasar la línea de referencia (2.120) son los denominados factores significativos, se observa que únicamente la temperatura (factor B) es la variable significativa en el modelo. La cantidad de hojas (factor A), el estado físico de la muestra (factor C) y las interacciones entre estos no son significativos. Sin embargo, los valores de significancia, tanto de la cantidad de hojas y del estado físico de la muestra como su interacción con la temperatura se encuentran cercanos al valor de significancia de 0.05.

En consecuencia, para el diseño factorial concentración de taninos vs. temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra) el modelo de segundo orden tomando en cuenta los factores: temperatura, estado físico de la muestra y su interacción se explica por la Ecuación 3:

Ecuación 3

$$C_T = 0.8883 - 0.5175 \text{ Temp}_1 + 0.5175 \text{ Temp}_2 + 0.1342 \text{ Est. Muestra}_1 - 0.1342 \text{ Est. Muestra}_2 + 0.1400 \text{ Temp*Est. Muestra}_{11} - 0.1400 \text{ Temp*Est. Muestra}_{12} - 0.1400 \text{ Temp*Est. Muestra}_{21} + 0.1400 \text{ Temp*Est. Muestra}_{22}$$

Con el fin de establecer la relación entre estos efectos, se evaluaron sus interacciones mediante los gráficos de la Figura 6 donde se puede observar el comportamiento de las interacciones entre los diferentes factores con respecto a los promedios de las respuestas. Si las líneas son paralelas, indica que no hay interacción entre las variables independientes, y que los efectos de cada variable independiente se comportan de forma individual. Si, por el contrario, las líneas se cruzan o divergen, tal como lo reflejan las interacciones entre “temperatura vs. estado físico de la muestra” y “cantidad de hojas vs. temperatura” significando que hay interacción entre estas variables independientes. En el caso que las líneas converjan hacia un punto, revela una interacción aditiva que significa que el efecto conjunto de las variables independientes es igual a la suma de sus efectos individuales. En cambio, si las líneas se alejan unas de otras, ocurre una



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

interacción sinérgica, debido a que el efecto conjunto de las variables independientes es mayor o menor que la suma de sus efectos individuales dependiendo de la dirección.

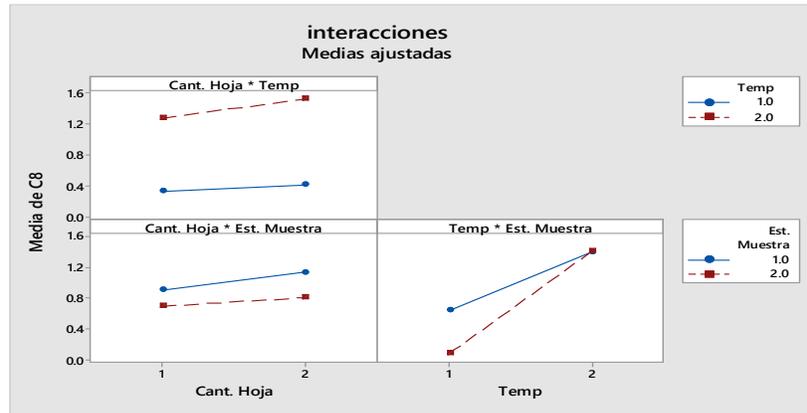


Figura 6

Interacciones de las medias ajustadas del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)

El grafico de probabilidad normal de residuos ayuda a determinar si los residuos siguen o no la distribución normal supuesta. Los residuos deben seguir una línea recta, como ocurre en este caso donde los puntos se muestran aproximadamente a lo largo de una línea recta en la Figura 7.

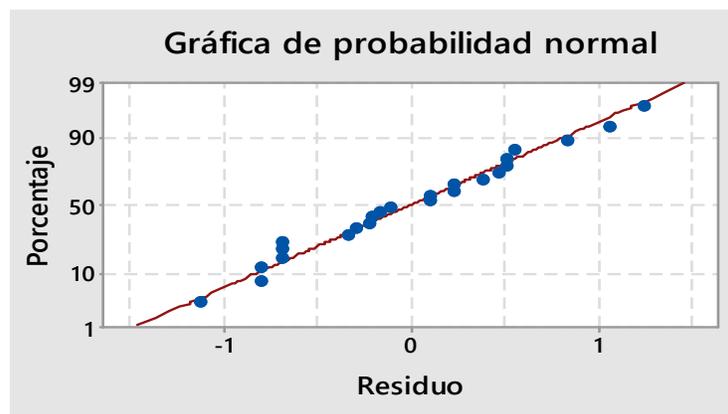


Figura 7

Gráfica de probabilidad normal de los residuos del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

La grafica de residuos vs. ajustes se utiliza para verificar el supuesto de que los residuos están distribuidos aleatoriamente y tienen una varianza constante. A como se muestra en la Figura 8 los puntos se ubican aleatoriamente a ambos lados del 0, sin patrones detectables en los puntos, lo cual es ideal en este tipo de gráfico.

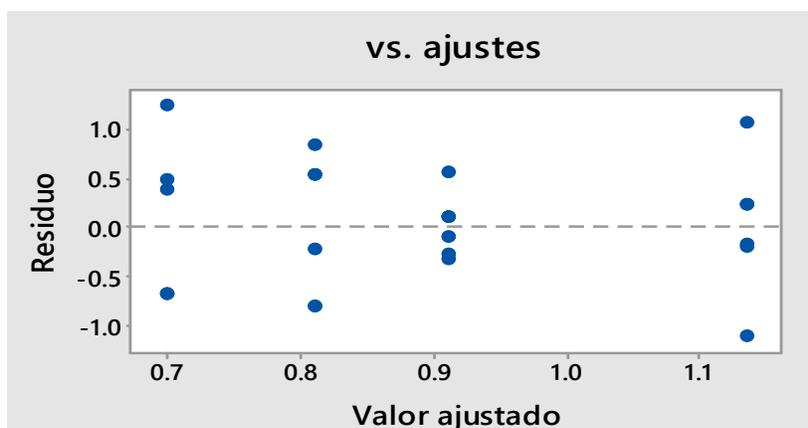


Figura 8

Grafica de residuo vs. Ajustes del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)

La gráfica de residuos vs. orden se utiliza para verificar el supuesto de que los residuos son independientes entre sí. Los residuos independientes no muestran tendencias ni patrones cuando se muestran en orden cronológico a como se puede observar en la Figura 9 se distribuyen aleatoriamente los puntos alrededor de la línea central.

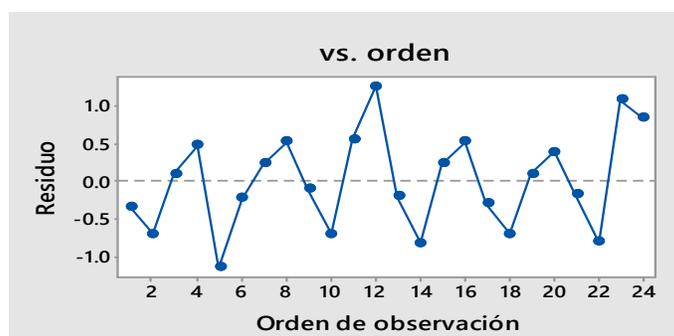


Figura 9

Gráfica de residuos vs. Orden del diseño factorial concentración de taninos vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja), temperatura del agua (Temp) y estado físico de la muestra (Est. Muestra)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Una vez evaluados los parámetros que indican la idoneidad del diseño factorial aplicado, se procedió a la optimización, mediante un gráfico de superficie de respuesta, como se aprecia en la Figura 10 a mayor temperatura y cantidad de hojas existe mayor concentración de ácido tánico equivalente a taninos.

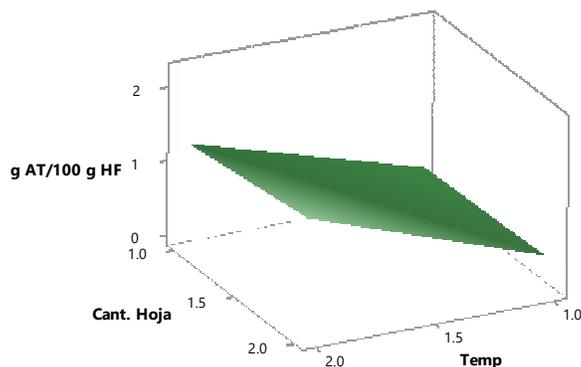


Figura 10

Gráfica de superficie de respuesta para el diseño factorial de concentración de taninos (g AT/100g HF) vs. cantidad de hojas (Cant. Hoja) y temperatura (Temp)

De igual manera, en la Figura 11 la gráfica de superficie de respuesta para los promedios de contenido de taninos (mg AT/g HF) en relación a la temperatura del agua y el estado físico de la muestra, indica que cuando la temperatura del agua es mayor y las hojas estaban enteras, la concentración de ácido tánico equivalentes a taninos es mayor.

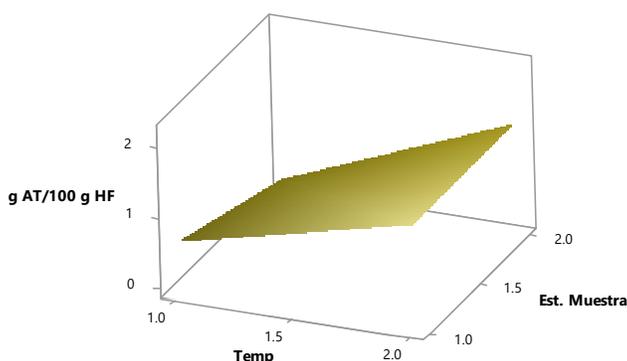


Figura 11

Gráfica de superficie de respuesta de la concentración promedio de taninos (mg AT/g HF) vs. estado físico de la muestra (Est. Muestra) y temperatura (Temp)



En consecuencia, podemos tomar como punto óptimo de las bebidas preparadas en condiciones ancestrales cuando tenemos mayor cantidad de hojas enteras y llevadas a decocción.

El objetivo principal de este estudio consiste en comparar el contenido de taninos presentes en las bebidas elaboradas en condición ancestral y comercial, por lo que el punto óptimo anteriormente establecido fue analizado estadísticamente frente al contenido de taninos en muestras de hojas de altamiz simulando condición comercial. Se prepararon éstas últimas según condiciones de otros productos que se comercializan en presentación de té, para lo cual las hojas de altamiz fueron deshidratadas durante 4 días, y posteriormente trituradas. Tomando como referencia 2 g de muestra (cantidad en sobres de té comercial). Se realizó la cuantificación espectrofotométrica utilizando el mismo método de Folin-Ciocalteu, obteniéndose los resultados en mg/L de ácido tánico (Tabla 11), a partir de la interpolación de las absorbancias obtenidas con la curva de calibración normal. En la Tabla 11 se muestran los resultados en mg AT/g HS, empleando la Ecuación 4.

$$\text{Ecuación 4 } mg_{AT}/g_{HS} = \frac{R_2 \times V_E}{M \times 1000}$$

Donde:

mg_{AT}/g_{HS} : miligramos de ácido tánico por gramo de hojas secas

R_2 : Concentración calculada de AT (mg/L).

M : Masa de muestra (2 g).

V_E : volumen de extractante (50 mL).

1000: Factor de conversión de L a mL.

Sin embargo, fue necesario para la comparación del óptimo de las bebidas en condiciones ancestrales con la simulada de condición comercial, emplear un factor de



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

conversión obtenido a partir del análisis de humedad, llevado a cabo durante la deshidratación de las hojas de altamiz, en el que se determinó el 35% de materia seca.

Tabla 11

Resultados de muestras deshidratadas de hojas de altamiz

Contenido de ácido tánico en hojas de altamiz simulando condición comercial			
Muestra	(mg/L)	mg AT/gHS	mg AT/gHF
1	56.88	2.84	1.00
2	54.22	2.71	0.95
3	55.27	2.76	0.97

En la Tabla 12 se muestran los resultados de concentración, en unidades de miligramos de ácido tánico por gramo de hojas frescas (mg AT/gHF), del óptimo de simulación de condiciones ancestrales y comercial a los que se aplicó el test de Cochran y se comprobó la homocedasticidad de las varianzas, a fin de realizar el análisis de varianza (ANOVA) de un factor.

Tabla 12

Datos a analizar mediante ANOVA de un factor

Contenido de ácido tánico en hojas de altamiz (mg AT/gHF)	
Ancestral	Comercial
2.25	1.00
1.64	0.95
1.32	0.97

Se plantearon las siguientes hipótesis:

H₀: las concentraciones de taninos son iguales en hojas frescas y en hojas secas.

H_a: las concentraciones de taninos no son iguales en hojas frescas y en hojas secas.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

El criterio de aceptación de H_0 será si $F_{cal} < F(0.05; k; n-1)$, en la Tabla 13 se muestran los resultados obtenidos en ANOVA, debido a que el valor de F calculado es menor del F crítico ($7.8696 < 7.7086$), se acepta la hipótesis alternativa, es decir existen diferencias significativas entre las concentraciones de ácido tánico equivalente a taninos en hojas frescas y hojas secas.

Tabla 13

Resultados ANOVA de un factor para la comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales en condición ancestral y comercial

RESUMEN				
<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Ancestral	3	5.21	1.7367	0.223233333
Comercial	3	2.91	0.9705	0.000549729

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.8805362	1	0.8805362	7.86955176	0.04855005	7.7086474
Dentro de los grupos	0.4475661	4	0.1118915			
Total	1.3281023	5				

En este sentido, se puede asumir que un incremento en la cantidad de hojas secas en la preparación de la bebida medicinal, provocaría un aumento en el contenido de taninos, por lo que se hace necesario establecer las condiciones óptimas para la comercialización de hojas de altamiz, a fin de obtener los beneficios reportados a partir del conocimiento ancestral.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Conclusión

Mediante los procedimientos ancestrales se logró extraer los taninos contenidos en las hojas de altamiz tomando como factores de estudio cantidad de hojas, estado físico de la muestra y temperatura aplicada al agua de preparación de las bebidas medicinales. Esto se comprobó a través de las pruebas cualitativas de complejación y precipitación de taninos. Los extractos que resultaron positivos a la presencia de taninos fueron analizados por espectrofotometría UV a 310 nm empleando el método de Folin-Ciocalteu teniendo como punto óptimo el contenido de ácido tánico (1.74 mg A.T./g HF) de la simulación de condiciones ancestrales la bebida que se preparó con once hojas frescas enteras y sometidas a decocción. La comparación estadística de las condiciones de preparación ancestral y comercial, indicó que si hay diferencias significativas respecto al contenido de taninos si la hoja es fresca o deshidratada, siempre y cuando sea sometida a decocción. De acuerdo a los resultados anteriores se pudo demostrar que las bebidas preparadas en condiciones ancestrales contienen taninos que confirman sus propiedades medicinales.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Recomendaciones

Con respecto a los resultados obtenidos en la presente investigación se dedujo que se pueden tomar en cuenta las siguientes recomendaciones:

- Ampliar este estudio a variedades similares a la *Ambrosia peruviana* Willd para conocer si poseen las mismas propiedades estudiadas en la presente investigación.
- Implementar el mismo método de extracción de taninos previamente estudiado en esta investigación a muestras de *Ambrosia peruviana* recolectadas en diferentes puntos del país para delimitar si la calidad del suelo influye en la presencia de taninos.
- Estudiar la estabilidad en el tiempo de los taninos en las hojas de altamiz deshidratadas y trituradas, a fin de evaluar su posible comercialización.
- Determinar la sensibilidad de las reacciones de complejación y precipitación, para establecer los límites de detección.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Bibliografía

- Akiyama, H., Fujii, K., Yamasaki, O., Oono, T., & Iwatsuki, K. (2001). Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48(4), 487–491. <https://doi.org/10.1093/JAC/48.4.487>
- Almaraz-Abarca, N., Antonio Ávila-Reyes, J., Amanda Delgado-Alvarado, E., & Naranjo-Jiménez Jesús Herrera-Corral, N. (2006). *EL METABOLISMO SECUNDARIO DE LAS PLANTAS, UN NUEVO CONCEPTO*. 18.
- Avello, Z. C. (2016). *Determinacion del contenido de taninos y evaluacion de la disminucion del infiltrado celular de distintos genotipos de UGNI MOLINAE TURCZ*. 87.
- Céspedes Loayza, A. L., & Muñoz Guillen, G. D. R. (2013). “*INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA, SOLVENTE Y TIPO DE VAINA EN LA EXTRACCION DE TANINOS DE Caesalpinia spinosa (Tara) POR PERCOLACION Y RELACION CON SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.*”
- Cheng HY, Lin CC, L. T. (2002). *Antiherpes simplex virus type 2 activity of casuarinin from the bark of Terminalia arjuna Linn.*
- Clavijo, N., & Jaramillo, B. C. J. (2017). ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE *Pachira quinata* (Jacq.) W.S. Alverson, Bogotá, Colombia. *Boletín Semillas Ambientales*, 11(1), 30–39.
- Clingingsmith, T. W. (1984). Series flow tandem fan: A high-speed V/STOL propulsion concept. *SAE Technical Papers*, 1–8. <https://doi.org/10.4271/841496>
- Colina, A. (2016). Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco). In *Repositorio de Tesis - UNMSM*.
- Erazo, S., Muñoz, O., García, R., Lemus, I., Backhouse, N., Negrete, R., San Feliciano, A., & Delporte, C. (2002). Constituents and biological activities from *Muehlenbeckia hastulata*. *Zeitschrift Fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences*, 57(9–10), 801–804. <https://doi.org/10.1515/znc-2002-9-1008>
- Ferré, J. (2002). *EL DISEÑO FACTORIAL COMPLETO* 22. 648–642.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

- Guaque, M. del P., Castaño, J. C., & Gómez, M. (2010). Detección de metabolitos secundarios en Ambrosia peruviana Willd y determinación de la actividad antibacteriana y antihelmíntica. *Infectio*, 14(3), 186–194. [https://doi.org/10.1016/s0123-9392\(10\)70110-7](https://doi.org/10.1016/s0123-9392(10)70110-7)
- Gupta, M. P., Santana, A. I., & Espinosa, A. (1990). Plantas medicinales de Panama. In *Rev Farmacol* (Vol. 45).
- Isaza M, J. H. (2007). *TANINOS O POLIFENOLES VEGETALES*. 5.
- Kolodziej, H., & Kiderlen, A. F. (2005). Antileishmanial activity and immune modulatory effects of tannins and related compounds on Leishmania parasitised RAW 264.7 cells. *Phytochemistry*, 66(17), 2056–2071. <https://doi.org/10.1016/J.PHYTOCHEM.2005.01.011>
- León Hernández, J. U., & Valero Ricardo Gil Otaiza, H. Y. (2002). *23 especies vegetales medicinales de uso frecuente en la población de Tabay*. 44.
- Lü, L., Liu, S. W., Jiang, S. B., & Wu, S. G. (2004). Tannin inhibits HIV-1 entry by targeting gp41. *Acta Pharmacologica Sinica*, 25(2), 213–218.
- Márquez Arcia Tania Angélica, M. C. C. U. M. M. A. M. (2010). *Determinación de fenoles totales en hojas y pseudo-fruto del Anacardium Occidentale L a través de espectrofotometría UV/VIS*. UNAN-Leon.
- Miller, J., & Miller, J. (2002). *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* (4th ed.).
- Mongay-Fernández, C. (2005). *Quimiometría*. Universitat de València.
- Nieves Abril Díaz, J. A. B. R. E. F. R. A. G. C. J. J. N. J. P. P. F. T. M.-V. I. T. F. (2019). Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Edificio Severo Ochoa, 14071-Córdoba, Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004-Córdoba*, 1–8.
- Ochoa, A., Lassny, S., Sarmiento, M., Andrea, J. U., De, C., Aplicadas, Y. A.-U. D. C. A. V., De, I., Facultad, D. E., Ciencias, B. D. C., Amado, O., Silviney, L., Mora, S., & Judith, A. (2018). *ESTUDIO FITOQUÍMICO DE LA ESPECIE VEGETAL Bucquetia glutinosa (L. f.) DC. (Melastomataceae) Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD BIOLÓGICA*.



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

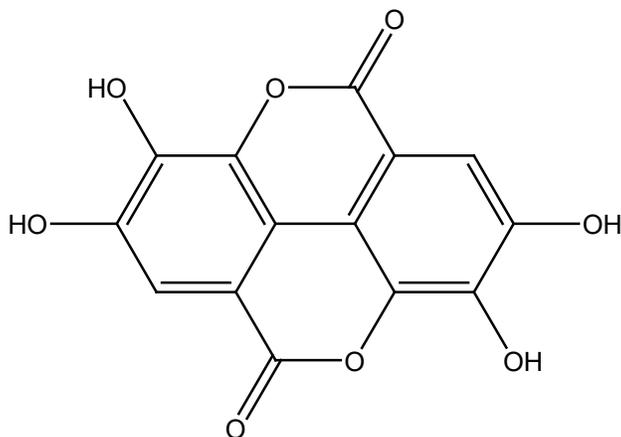
- Otaiza, G., Arzola, C., Arredondo, R., & Concepción, M. (2006). *Universidad de los Andes Venezuela*. 24, 463–481.
- Owen T. (2000). Fundamentos de la espectrofotometría UV-visible moderna Conceptos Básicos. *Angewandte Chemie International Edition*, 6(11), 951–952.
- Pulido, H. G., De la Vara Salazar, R., González, P. G., Martínez, C. T., & Pérez, M. del C. T. (2012). *Análisis y diseño de experimentos*. McGraw-Hill New York.
- Rengifo Zevallos, D. R. (2018). *Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de *Desmodium Vargasianum* Schubert*. 84(2).
- Salazar, C. F. T., & Jaime, L. M. V. (2011). *Tamizaje Fitoquímico en las hojas frescas de laurelillo [*Cordia inermis* (Mill.) IM Johnst.]*. Laboratorio de Control de Calidad de Medicamentos. UNAN-León. Agosto–Octubre 2010. 1–87.
- Sosa Verónica, Contreras Valeria, Blanc Lourdes, & Dellacassa Eduardo. (21 C.E., June). *Efecto radioprotector del ácido tánico y vinos de la var *Vitis vinífera* L. cv Tannat en *Saccharomyces**.



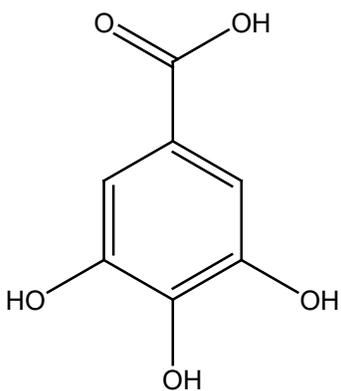
Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Anexo 1

Estructuras de los taninos



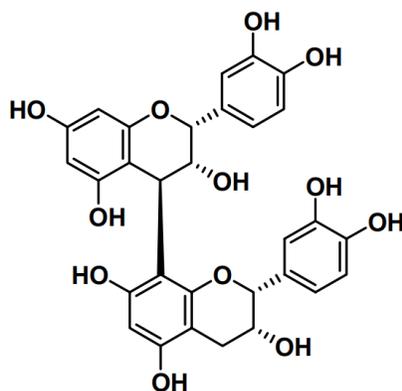
Estructura del ácido gálico (Avello, 2016)



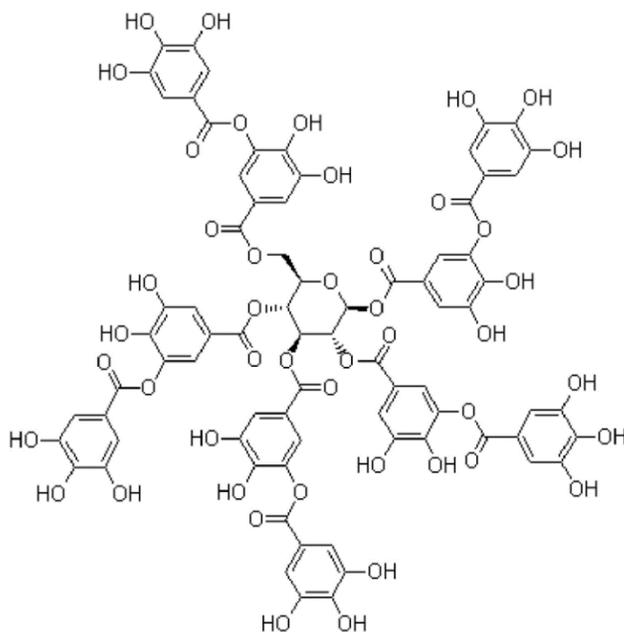
Estructura del ácido elágico (Avello, 2016)



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta



Estructura de Taninos condensados (Isaza M, 2007)



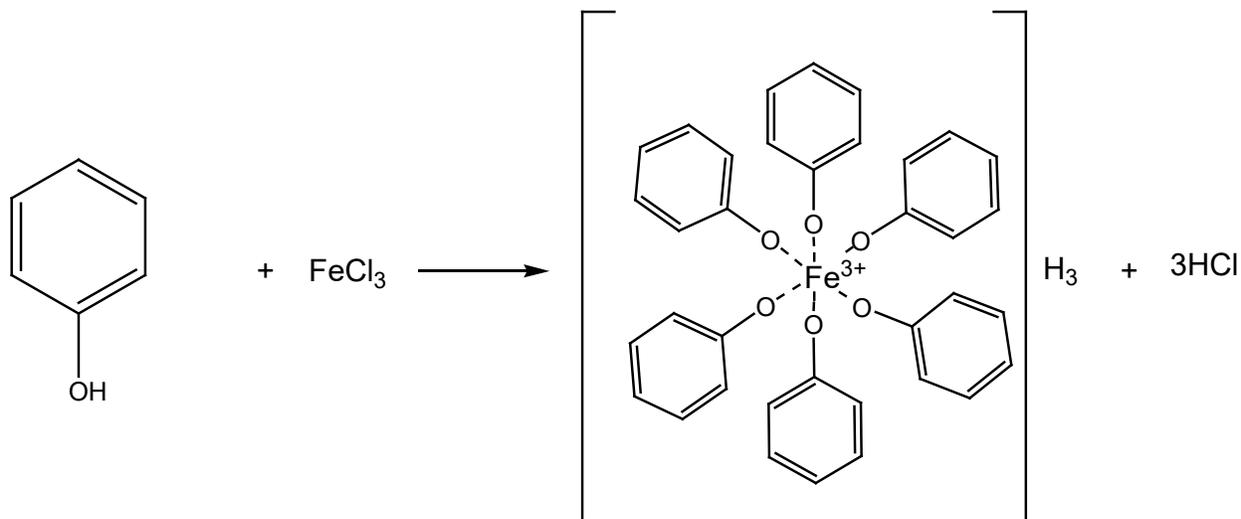
Estructura del patrón de ácido tánico (Avello, 2016)



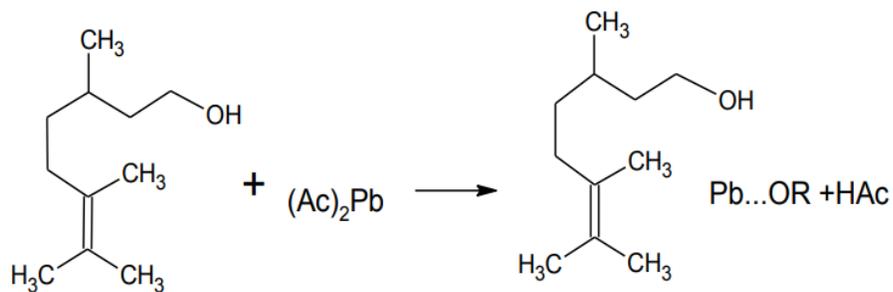
Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Anexo 2

Reacciones de complejación o precipitación de taninos



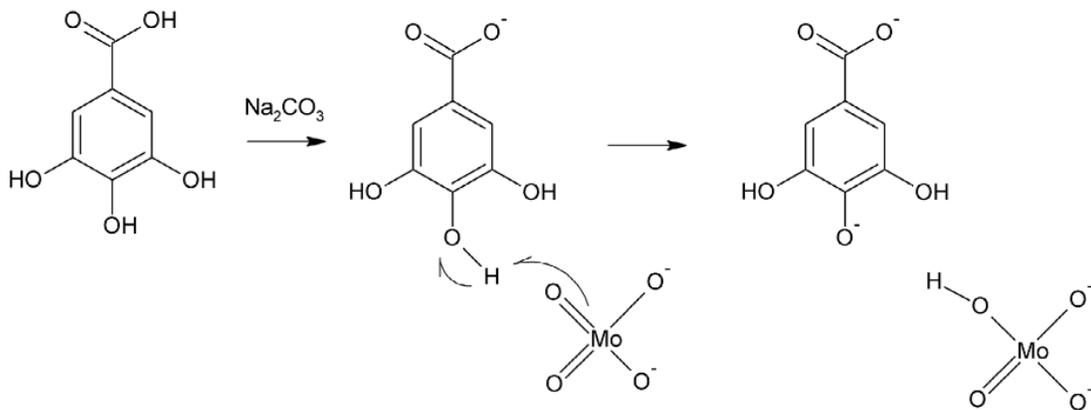
Reacción con cloruro férrico (Clavijo & Jaramillo, 2017).



Reacción con acetato de plomo (Clavijo & Jaramillo, 2017).



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta



Reacción de polifenoles con reactivo de Folin-Ciocalteu



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de *Ambrosia peruviana* Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Anexo 3

Certificación de identificación Taxonómica

Ambrosia peruviana Willd.

Asteraceae

Hierbas anuales a perennes, erectas, hasta 1-1.5 m de alto; tallos tomándose duros y leñosos, con tricomas delgados patentes. Hojas opuestas en la parte inferior, alternas en la superior, láminas de contorno lanceolado, 3-10 cm de largo, profundamente pinnatilobadas pero no verdaderamente compuestas, los lóbulos nuevamente lobados y dentados, densamente estrigosos en ambos lados, ligeramente menos en el envés; pecioladas. Capitulescencias de capítulos unisexuales, los estaminados en pedúnculos reflexos en racimos terminales largos, los pistilados sésiles y agrupados en las axilas de las hojas superiores reducidas; involucros estaminados ligeramente 6-7-lobados, ca 2 mm de largo y 4 mm de ancho, pilosos, páleas filiformes, ocultas por los 15-30 flósculos, éstas café-verdosas, apéndices de la antera muy prominentes, deltoides con ápice filiforme; involucros pistilados con 3-5 filarias exteriores, no fusionadas, las internas fusionadas a una estructura pilosa en forma de nuez que envuelve a un flósculo pistilado; ramas del estilo largamente exsertas. Fruto formado por la estructura en forma de nuez, obovoide, 3-4 mm de largo, angulada, rostrada, provista de una hilera de proyecciones espinosas gruesas, casi terminales, toda la estructura cae como una unidad.

Ampliamente cultivada debido a sus propiedades medicinales, ruderal en sitios alterados, zona pacífica; 0-375 m; fl y fr jun-oct; *Stevens 13178, 23306*; México a Sudamérica. Una especie similar, *A. hispida* Pursh, que se dice se encuentra en las playas del Caribe en Panamá, aunque no hay mención de esto en la *Flora of Panama*, posiblemente se pueda encontrar en Nicaragua. Son plantas postradas o procumbentes, con las hojas 2 ó 3 veces pinnatidividas hasta el nervio principal. Un género con ca 30 especies, principalmente en el Nuevo Mundo.

Bibliografía

Stevens, W.D., C. Ulloa Ulloa, A. Pool & O.M. Montiel (eds.). 2001. *Flora de Nicaragua* Vol. I. Monogr. Syst. Bot. Missouri Bot. Gard. 85.

Identificación de la muestra:

Indiana Coronado

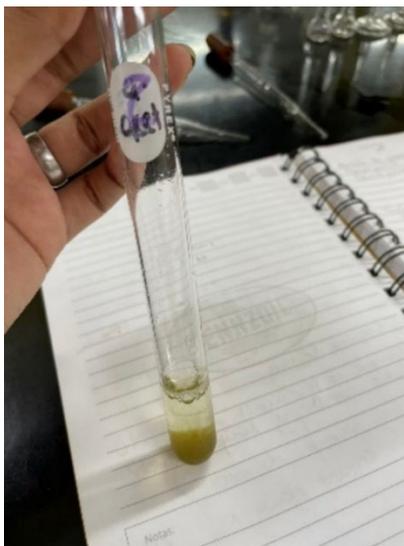


Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Anexo 4



a. Reacción de cloruro férrico



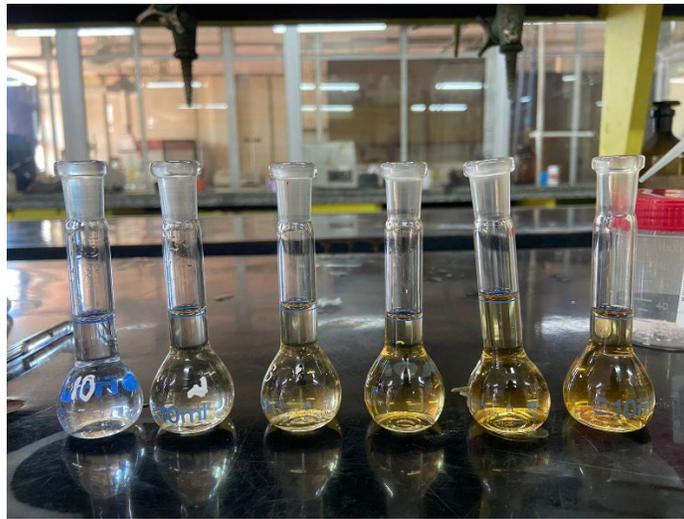
b. Reaccion de precipitacion con acetato de plomo



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta



c. Preparacion de extractos acuosos de hojas de altamiz



d. Soluciones estándares para curva de calibración



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Anexo 5

Estudio de aplicaciones y consumo de infusiones a base de hojas de altamiz

1- ¿Usted toma infusiones (Té) de hojas altamiz?

Si No

2- ¿De dónde toma las hojas que utiliza en su té?

Su casa lugares cerca de su casa calle

3- ¿Como prepara usted el té de altamiz?

Restriega las hojas y luego les agrega agua al tiempo

Licua las hojas y luego les agrega agua al tiempo

Coloca las hojas con agua a hervir

Realiza un percolado de las hojas con agua caliente

Seca y muele las hojas para conservarlas y luego utilizarlas

4- cuantas hojas utiliza?

7

11

15

Otro:

5- ¿Para qué padecimientos utiliza el té?

Dolor de estómago Cólicos Nervios

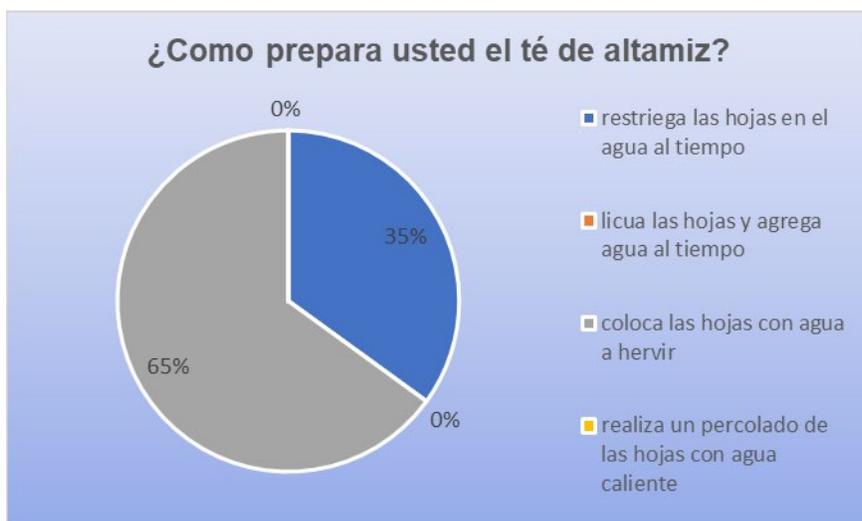
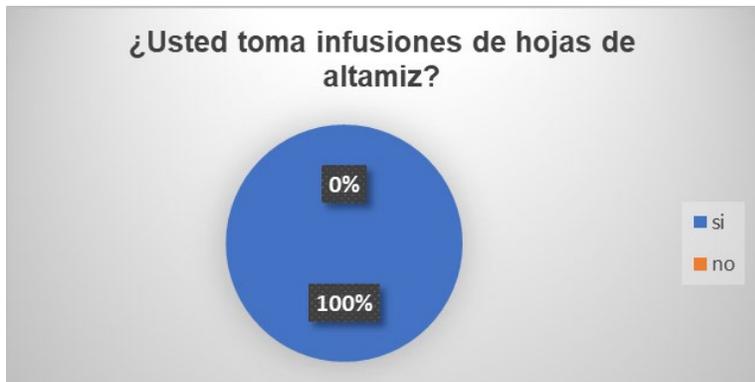
Dolor de cabeza Otro:



Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

Anexo 6

Resultados de las 20 personas encuestadas.





Comparación del contenido de taninos en bebidas medicinales de hojas de Ambrosia peruviana Willd (altamiz) simulando condiciones ancestrales y comercial mediante espectrofotometría ultravioleta

