

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



ANALISIS FITOQUIMICO Y DETERMINACION DE METALES PESADOS EN
MATERIAL VEGETAL E INFUSIONES DE “MANZANILLA” (*Matricaria
chamomilla* L.) Y “TE VERDE” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

TRABAJO DE GRADO EN MODALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACION

PRESENTADO POR

EDGARD JOSUE GRANDE VELASCO

SANDRA VERONICA FLORES PEÑA

PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO(A) EN QUIMICA Y FARMACIA

MAYO 2023

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MAESTRO FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REINA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIA

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADO

DIRECTORA GENERAL

M.Sc. Ena Edith Herrera Salazar

TRIBUNAL EVALUADOR

**ASESORA DE AREA EN APROVECHAMIENTO DE RECURSOS
NATURALES**

M.Sc. Ana Miriam Santamaría de Campos

**ASESOR DE AREA EN INDUSTRIA FARMACEUTICA, COSMETICA Y
VETERINARIOS**

Lic. Moisés Atonalt Guerra Avilés

DOCENTE ASESOR

Lic. Emerson Gustavo Martínez Hernández

AGRADECIMIENTOS

A nuestro docente asesor:

Expresamos nuestros más sinceros agradecimientos al Lic. Emerson Gustavo Martínez Hernández por brindarnos todos los lineamientos necesarios para la realización de nuestro trabajo de graduación, por su apoyo al momento de brindar sus conocimientos y experiencias que fueron de mucha ayuda para el desarrollo del presente trabajo.

A los docentes del tribunal evaluador:

M.Sc. Ana Miriam Santamaría de Campos y Lic. Moisés Atonalt Guerra Avilés quienes han dirigido el presente trabajo de investigación, por sus consejos, sugerencias, apoyo y enseñanzas determinantes para alcanzar los objetivos propuestos.

Agradecemos a los Docentes y Personal del Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia; igualmente a los Docentes y Personal del Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, de la Universidad de El Salvador: por su profesionalismo y su disponibilidad en el momento de ejecutar la parte experimental de este trabajo de investigación.

DEDICATORIA

Agradezco primeramente a Dios por permitirme concluir esta etapa tan importante en mi vida, por haberme dado sabiduría, entendimiento y la fortaleza necesaria para perseverar a pesar de todos los obstáculos ya que sin él nada de esto hubiera sido posible.

Este triunfo se lo dedico especialmente a mis padres Claudia de Grande y Edgard Grande ya que ellos fueron mi apoyo incondicional durante todo este camino, gracias por sus palabras de aliento, sus oraciones, su amor y cada uno de los sacrificios hechos, con el objetivo de ayudarme a cumplir esta meta, por lo que siempre estaré en deuda con ustedes. Especialmente contigo papá, mi ángel más importante en el cielo y por quien la lucha de culminar mi carrera se volvió mi gran prioridad, los amo.

A mi hermano Pablo Grande, mi tía Tatiana Velasco y mi prima Camila Velasco, quienes siempre tuvieron palabras de aliento y pequeños detalles para motivarme a seguir adelante y por quienes quiero ser de ejemplo, para que continúen con sus sueños y festejemos nuestros logros juntos, los amo.

Por ultimo y no menos importante, a mis compañeros de trabajo y grandes amigos Charlie, Juan, Enrique, Diana y Tony, quienes me han permitido ser el “anexitó” de su familia. Quienes han sido de mucho apoyo durante la última etapa de este logro y con quienes he podido vivir momentos increíbles y guardar grandiosos recuerdos para el futuro. Los quiero y deseo que podamos seguirlo haciendo por muchos años más.

Edgard Josué Grande Velasco

DEDICATORIA

A mi madre Sandra Peña, por ser el pilar fundamental en mi vida, por demostrarme siempre su amor incondicional. Gracias por creer en mí.

A mi familia por su apoyo, cariño y por la motivación que me brindaron para seguir adelante a lo largo de la carrera.

A Dios por haberme permitido llegar hasta aquí hoy, por darme fuerza y salud para llevar a cabo mis metas y objetivos.

A todas aquellas personas que de una u otra manera me ayudaron a llegar a la meta, por motivarme y apoyarme.

Sandra Verónica Flores Peña

INDICE GENERAL

| | Pág. N° |
|--|---------|
| RESUMEN | |
| CAPITULO I | |
| 1.0 INTRODUCCIÓN | xx |
| CAPITULO II | |
| 2.0 OBJETIVOS | |
| CAPITULO III | |
| 3.0 MARCO TEORICO | 25 |
| 3.1 Especies Vegetales | 25 |
| 3.1.1 “Manzanilla” (<i>Matricaria chamomilla</i> L.) | 25 |
| 3.1.1.1 Historia | 25 |
| 3.1.1.2 Generalidades | 25 |
| 3.1.1.3 Descripción botánica | 27 |
| 3.1.1.4 Usos etnobotánicos | 28 |
| 3.1.1.5 Metabolitos secundarios | 29 |
| 3.1.1.6. Actividades biológicas | 30 |
| 3.1.1.7 Otros estudios | 31 |
| 3.1.2 “Té Verde” (<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze) | 32 |
| 3.1.2.1 Historia | 32 |
| 3.1.2.2 Generalidades | 32 |
| 3.1.2.3 Descripción botánica | 33 |
| 3.1.2.4 Usos etnobotánicos | 34 |
| 3.1.2.5 Metabolitos secundarios | 35 |
| 3.1.2.6 Actividades biológicas | 37 |
| 3.2 Breve Historia de las infusiones | 38 |
| 3.3 Infusiones | 39 |

| | |
|---|----|
| 3.4 Métodos de Extracción de Drogas Crudas | 41 |
| 3.4.1 Extracción discontinua | 42 |
| 3.4.2 Extracción Continua | 43 |
| 3.5 Análisis Fitoquímico Preliminar | 43 |
| 3.6 Métodos de separación de metabolitos secundarios | 45 |
| 3.6.1 Métodos cromatográficos | 45 |
| 3.6.1.1 Cromatografía en capa fina | 46 |
| 3.6.2 Determinación del factor de reparto (R_f) | 47 |
| 3.7 Control de calidad de plantas medicinales | 48 |
| 3.7.1 Contaminación por Metales Pesados | 49 |
| 3.8 Buenas Prácticas Agrícolas | 51 |
| 3.9 Metales Pesados | 52 |
| 3.9.1 Clasificación de elementos metálicos según la Agencia Europea (EMA) Directriz ICH Q3D (R1). Guía sobre impurezas elementales. | 53 |
| 3.9.2 Arsénico | 55 |
| 3.9.2.1 Generalidades del Arsénico | 55 |
| 3.9.2.2 Fuentes de Exposición al Arsénico | 55 |
| 3.9.2.3 Efectos Tóxicos del Arsénico en el ser humano | 56 |
| 3.9.3 Cadmio | 58 |
| 3.9.3.1 Generalidades del Cadmio | 58 |
| 3.9.3.2 Fuentes de Exposición al Cadmio | 59 |
| 3.9.3.3 Efectos Tóxicos del Cadmio en el ser humano | 59 |
| 3.9.4 Níquel | 61 |
| 3.9.4.1 Generalidades del Níquel | 61 |
| 3.9.4.2 Fuentes de Exposición al Níquel | 61 |
| 3.9.4.3 Efectos Tóxicos del Níquel en el ser humano | 62 |
| 3.9.5 Plomo | 64 |
| 3.9.5.1 Generalidades del Plomo | 64 |
| 3.9.5.2 Fuentes de Exposición al Plomo | 64 |

| | |
|--|----|
| 3.9.5.3 Efectos Tóxicos del Plomo en el ser humano | 65 |
| 3.10 Método Para Determinar Metales Pesados | 67 |
| 3.10.1 Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA) | 67 |
| 3.10.2 Usos y aplicaciones de la Espectrometría de Absorción Atómica | 67 |
| 3.10.3 Técnicas de Análisis Aplicadas en esta Investigación | 68 |
| 3.10.3.1 Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama | 69 |
| 3.10.3.2 Espectrofotometría de Absorción Atómica por Generador de Hidruros | 70 |
| CAPITULO IV | |
| 4.0 DISEÑO METODOLÓGICO | 73 |
| 4.1 Tipo de estudio | 73 |
| 4.2 Investigación bibliográfica | 74 |
| 4.3 Investigación de campo | 74 |
| 4.4 Parte Experimental | 76 |
| 4.4.1 Análisis fitoquímico preliminar - Preparación de los extractos | 76 |
| 4.4.2 Análisis Fitoquímico Preliminar en Material Vegetal e Infusiones Identificación de metabolitos secundarios. | 78 |
| 4.4.2.1 Identificación de glicósidos saponínicos | 78 |
| 4.4.2.2 Identificación de glicósidos cardiotónicos | 79 |
| 4.4.2.3 Identificación de flavonoides | 79 |
| 4.4.2.4 Identificación de antraquinonas | 80 |
| 4.4.2.5 Identificación de taninos | 81 |
| 4.4.2.6 Identificación de alcaloides | 82 |
| 4.4.2.7 Identificación de sesquiterpenlactonas | 82 |
| 4.4.2.8 Identificación de cumarinas | 83 |
| 4.4.2.9 Identificación de terpenoides | 84 |
| 4.4.3 Determinación de As, Cd, Ni, Pb por espectrofotometría de absorción atómica | 85 |
| 4.4.3.1 Pretratamiento de la muestra – material vegetal | 85 |

| | |
|--|----|
| 4.4.3.2 Determinación del Porcentaje de Humedad Total (%HT) | 85 |
| 4.4.3.3 Determinación del Porcentaje de Cenizas (%Cz) | 86 |
| 4.4.3.4 Preparación de Solución de Cenizas para Determinación de Metales Pesados | 87 |
| 4.4.3.5 Pretratamiento de la muestra - infusiones | 88 |
| 4.4.3.6 Digestión de muestra líquida para determinación de metales pesados | 88 |
| 4.4.3.7 Procedimiento para la cuantificación de Arsénico (As) en Material Vegetal e Infusiones por espectrofotometría de absorción atómica por generador de hidruros. | 89 |
| 4.4.3.8 Procedimiento para la cuantificación de Cadmio, Níquel y Plomo (Cd, Ni, Pb) en Material Vegetal e Infusiones por espectrofotometría de absorción atómica de llama. | 90 |
| 4.5 Análisis Estadístico. | 93 |

CAPITULO V

| | |
|--|-----|
| 5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 95 |
| 5.1 Resultados de la encuesta dirigida a la población estudiantil de cuarto y quinto año de la Facultad de Química y Farmacia del Campus Central de la Universidad de El Salvador. | 95 |
| 5.1.1 Selección de las marcas de preferencia de infusiones de “Manzanilla” y “Té Verde”. | 96 |
| 5.2 Resultados y discusión del análisis fitoquímico preliminar | 97 |
| 5.2.1 Identificación de Glicósidos Saponínicos | 97 |
| 5.2.2 Identificación de Glicósidos Cardiotónicos | 98 |
| 5.2.3 Identificación de Flavonoides | 100 |
| 5.2.4 Identificación de Antraquinonas | 102 |
| 5.2.5 Identificación de Taninos | 104 |
| 5.2.6 Identificación de Alcaloides | 105 |
| 5.2.7 Identificación de Sesquiterpenlactonas | 107 |
| 5.2.8 Identificación de Cumarinas | 109 |
| 5.2.9 Identificación de Terpenoides | 110 |
| 5.3 Resultados de la determinación de metales pesados | 113 |

| | |
|--|-----|
| 5.3.1 Resultados digestión por vía Seca - Material Vegetal. | 113 |
| 5.3.2 Resultados y discusión de la determinación de arsénico | 115 |
| 5.3.3 Resultados y discusión de la determinación de cadmio | 119 |
| 5.3.4 Resultados y discusión de la determinación de níquel | 124 |
| 5.3.5 Resultados y discusión de la determinación de plomo | 128 |
| CAPITULO VI | |
| 6.0 CONCLUSIONES | 135 |
| CAPITULO VII | |
| 7.0 RECOMENDACIONES | 138 |
| BIBLIOGRAFÍA | |
| ANEXOS | |

INDICE DE FIGURAS

| Figura N° | Pág. N° |
|---|---------|
| 1 <i>Matricaria chamomilla</i> (L). | 27 |
| 2 <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze. | 34 |
| 3 Esquema de métodos extractivos de drogas crudas. | 41 |
| 4 Representación gráfica de separación de componentes de una mezcla por cromatografía de capa fina. | 47 |
| 5 Placa cromatográfica donde se identifican las distancias a medir para calcular el factor de reparto. | 48 |
| 6 Representación de los componentes instrumentales de un espectrofotómetro de absorción atómica. | 68 |
| 7 Esquema del proceso de espectrofotometría de absorción atómica por llama. | 70 |
| 8 Esquema del proceso de espectrofotometría de absorción atómica por generador de hidruros. | 71 |
| 9 Gráfico de barras que representa las marcas de infusiones que son de preferencia por los estudiantes encuestados. | 96 |
| 10 Resultados positivos en la identificación de glicósidos cardiotónicos en "Té verde" | 99 |
| 11 Resultados positivos en la identificación de flavonoides en "Manzanilla" | 101 |
| 12 Resultados positivos en la identificación de antraquinonas en "Té verde" | 103 |
| 13 Resultados positivos de la identificación de taninos en "Té verde" | 105 |
| 14 Resultados positivos en la identificación de sesquiterpenlactonas en "Té verde" | 108 |
| 15 Resultados positivos en la identificación de cumarinas en "Manzanilla" y "Té verde" | 109 |
| 16 Resultado positivo en la identificación de terpenoides en "Manzanilla" y "Té verde" | 112 |

INDICE DE CUADROS

| Cuadro N° | Pág. N° |
|---|---------|
| 1 Taxonomía de la Manzanilla | 26 |
| 2 Taxonomía del Té verde | 33 |
| 3 Pruebas de Identificación de Metabolitos Secundarios. | 44 |
| 4 Sistema de codificación para la identificación de muestras en el análisis fitoquímico preliminar | 97 |
| 5 Sistema de codificación para la identificación de muestras para la determinación de metales pesados | 113 |

INDICE DE TABLAS

| Tabla N° | Pág. N° |
|--|---------|
| 1 Valores de referencia sobre la concentración de metales pesados según Normativas Internacionales | 54 |
| 2 Soluciones estándar individuales para curva de calibración de cadmio (Cd), níquel (Ni), plomo (Pb) y arsénico (As) | 92 |
| 3 Resultados obtenidos en la identificación de glicósidos saponínicos por el método de la espuma | 98 |
| 4 Resultados obtenidos en la identificación de glicósidos cardiotónicos | 100 |
| 5 Resultados obtenidos en la identificación de flavonoides | 101 |
| 6 Resultados obtenidos en la identificación de Antraquinonas | 102 |
| 7 Resultados obtenidos en la identificación de Taninos | 104 |
| 8 Resultados obtenidos en la identificación de Alcaloides | 105 |
| 9 Resultados obtenidos en la identificación de Sesquiterpenlactonas | 107 |
| 10 Resultados obtenidos en la identificación de Cumarinas | 110 |
| 11 Resultados obtenidos en la identificación de Terpenoides | 111 |
| 12 Resumen del análisis fitoquímico preliminar | 112 |
| 13 Resultados de la determinación del porcentaje de humedad total en material vegetal (%HT) | 113 |
| 14 Resultados de la determinación del porcentaje de ceniza en material vegetal (%Cz) | 114 |
| 15 Resultados de la determinación de arsénico en material vegetal (MV) e infusiones (Inf) | 115 |
| 16 Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de arsénico (As) en material vegetal | 116 |
| 17 Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de arsénico (As) en material vegetal de Té verde. | 117 |
| 18 Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de arsénico (As) en material vegetal de Manzanilla. | 118 |

| | | |
|----|--|-----|
| 19 | Resultados de la determinación de cadmio (Cd) en material vegetal (MV) e infusiones (Inf) | 119 |
| 20 | Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal | 120 |
| 21 | Análisis de varianza para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de “Té verde” | 121 |
| 22 | Análisis de diferencias significativas de Fisher (LSD) para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Té Verde | 121 |
| 23 | Análisis de varianza para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Manzanilla. | 122 |
| 24 | Análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD) para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Manzanilla. | 123 |
| 25 | Resultados de la determinación de níquel (Ni) en material vegetal (MV) en infusiones (Inf) | 124 |
| 26 | Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de níquel (Ni) en material vegetal | 125 |
| 27 | Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de níquel (Ni) en material vegetal de Té verde. | 126 |
| 28 | Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de níquel (Ni) en material vegetal de Manzanilla. | 127 |
| 29 | Resultados de la determinación de plomo en material vegetal (Pb) en material vegetal (MV) e Infusiones (inf) | 128 |
| 30 | Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de plomo (Pb) en material vegetal | 129 |
| 31 | Análisis de varianza para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Té verde | 130 |
| 32 | Análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD) para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Té verde | 130 |

| | | |
|----|--|-----|
| 33 | Análisis de varianza para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Manzanilla | 131 |
| 34 | Análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD) para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Manzanilla | 132 |

INDICE DE ANEXOS

Anexo N°

- 1 Formato de encuesta – Formulario de Google
- 2 Ubicación geográfica del super mercado donde se realizó el muestreo
- 3 Muestreo de material vegetal e infusiones para el análisis fitoquímico preliminar
- 4 Muestreo de material vegetal para la determinación de metales pesados
- 5 Muestreo de infusiones para la determinación de metales pesados
- 6 Procedimiento de extracción asistida por ultrasonido
- 7 Extracción asistida por ultrasonido
- 8 Procedimiento de extracción por el método de infusión
- 9 Extracción por método de infusión
- 10 Análisis fitoquímico preliminar
- 11 Proceso general para la determinación de metales pesados
- 12 Determinación de humedad total
- 13 Determinación de cenizas y solución de cenizas
- 14 Digestión de muestras líquidas
- 15 Preparación de soluciones stock para determinación de metales pesados
- 16 Preparación de soluciones estándar para determinación de metales pesados
- 17 Planteamiento de cálculos para la preparación de solución stock y soluciones estándar de arsénico, cadmio, níquel y plomo
- 18 Esquema general para la determinación de metales pesados
- 19 Resultados de la encuesta
- 20 Preparación de reactivos para análisis fitoquímico preliminar
- 21 Preparación de reactivos para la determinación de metales pesados
- 22 Bosquejo de artículo científico sobre los resultados obtenidos en este trabajo de investigación

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad el llevar a cabo el análisis fitoquímico preliminar y la cuantificación de metales pesados en tres marcas de infusiones de dos especies vegetales diferentes, comercializadas en el supermercado “Super Selectos” del Centro Comercial San Luis de San Salvador. Las especies vegetales estudiadas fueron “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Las marcas seleccionadas para la investigación fueron el resultado de una encuesta sobre las marcas de infusiones de preferencia, realizada a los estudiantes de cuarto y quinto año de la Facultad de Química y Farmacia, siendo estas las siguientes: McCormick, Mondaisa y Súper Selectos.

Se llevó a cabo el tamizaje fitoquímico preliminar de material vegetal y de las infusiones en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia; y la cuantificación de los metales pesados arsénico, cadmio, níquel y plomo por medio de absorción atómica en el laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas durante el periodo de noviembre de 2021 hasta abril de 2022.

Para el análisis fitoquímico, en “Manzanilla” se obtuvieron resultados positivos a flavonoides, cumarinas y terpenoides. Por otra parte, para “Té verde” se obtuvieron resultados positivos a taninos, cumarinas y terpenoides. Para la cuantificación de metales pesados se obtuvieron resultados favorables para arsénico, cadmio y níquel ya que para ambas especies vegetales y para las tres marcas analizadas, sus materiales vegetales cumplen con los límites establecidos por las normativas internacionales Organización Mundial de la Salud, Agencia Europea de Medicamentos y Farmacopea Europea. Caso contrario para plomo donde las muestras analizadas cumplen con las normativas de la Organización Mundial de la Salud y Farmacopea Europea, pero sobrepasan los límites establecidos por la Agencia Europea de Medicamentos.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCIÓN

El término metal pesado se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso muy bajas. Según la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) el cadmio (Cd) se encuentra dentro de los ocho principales contaminantes ambientales junto con el arsénico (As), cromo (Cr), cobre (Cu), Mercurio (Hg), níquel (Ni), plomo (Pb) y Zinc (Zn).

Los metales pesados son peligrosos porque tienden a bioacumularse en diferentes cultivos. La bioacumulación significa un aumento de la concentración de un producto químico en un organismo vivo en un cierto plazo de tiempo, comparada a la concentración de dicho producto químico en el ambiente.

Es un error común pensar que todo lo que proviene o se encuentra en la naturaleza no puede ser tóxico, pero según investigaciones se ha documentado que las plantas pueden estar contaminadas con contaminantes ambientales especialmente metales pesados, los cuales representan grandes riesgos en la salud tras exposiciones a largo plazo.

Los contaminantes ambientales llegan naturalmente provenientes de la atmosfera, del suelo o provienen de fuentes antropogénicas. Y sus implicaciones potenciales en la salud ocurren por la contaminación química con trazas de metales pesados en plantas, particularmente desde que se sabe que las plantas acumulan metales en las hojas. Estudios realizados en suplementos botánicos y en plantas medicinales demuestran que podrían estar contaminadas con metales pesados y contener niveles tóxicos de los mismos.

El uso de plantas medicinales y sus extractos se han propagado no sólo en países industrializados sino también en países en desarrollo como un complemento para tratar y prevenir enfermedades. A nivel internacional se han realizado numerosas investigaciones de metales pesados en infusiones a base

de plantas medicinales. Caso contrario a nuestro país donde existen escasos datos a nivel nacional sobre análisis en este tipo de matrices.

El Salvador es un país con una gran tradición de uso de plantas medicinales y en los últimos años se ha visto aumentada, influido ya sea por el alto precio de los medicamentos alopáticos o por la efectividad de algunas plantas medicinales conocidas por tradición, como por ejemplo: “Chichipince” (*Hamelia patens*) como antiinflamatorio y analgésico; “Eucalipto” (*Eucalyptus citriodora*) como antiséptico y expectorante para gripes o resfriados: “Jengibre” (*Zingiber officinale Roscoe*) para enfermedades respiratorias, cólicos gastrointestinales, vómitos; entre muchas otras especies vegetales medicinales que tienen un uso tradicional arraigado en la población salvadoreña.

Por tales razones, en esta investigación se seleccionaron como muestras las marcas de infusiones McCormick, Mondaisa y Súper Selectos de “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té Verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze), y se determinó si existen problemas de contaminación por metales pesados.

El desarrollo práctico de la investigación se realizó en la Universidad de El Salvador, en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia, donde se llevó a cabo el Análisis Fitoquímico Preliminar; y en el Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas donde se realizó la Cuantificación de Metales Pesados por Espectrofotometría de Absorción Atómica por Llama y por Generador de Hidruros. Ambos desarrollos prácticos se efectuaron en muestras de material vegetal e infusiones preparadas de “Manzanilla” y “Té Verde” de tres diferentes marcas. Información que se recolectó a través de una encuesta virtual en Google Form, dirigida a los estudiantes de Farmacognosia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador durante los meses de septiembre a noviembre del 2020.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar el análisis fitoquímico y determinación de metales pesados en material vegetal e infusiones de “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té Verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze).

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 2.2.1. Realizar el análisis fitoquímico preliminar en material vegetal e infusiones de *Matricaria chamomilla* L. y *Camellia sinensis* (L.) Kuntze.
- 2.2.2. Cuantificar la concentración de arsénico, cadmio, níquel y plomo en material vegetal e infusiones de *Matricaria chamomilla* L. y *Camellia sinensis* (L.) Kuntze por medio de espectrofotometría de absorción atómica por Llama y por Generador de Hidruros.
- 2.2.3. Evaluar si existen diferencias estadísticamente significativas entre las marcas de *Matricaria chamomilla* L. y *Camellia sinensis* (L.) Kuntze según los resultados obtenidos de la concentración de metales pesados en las muestras de material vegetal e infusiones.
- 2.2.4. Comparar los niveles de Arsénico, Cadmio, Níquel y Plomo obtenidos en material vegetal e infusiones de *Matricaria chamomilla* L. y *Camellia sinensis* (L.) Kuntze con los niveles de concentración máxima permitida, establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS), Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y Farmacopea Europea (Ph Eur).
- 2.2.5. Redactar un bosquejo de artículo científico para dar a conocer los resultados obtenidos en la investigación y que sirva de insumo para futuras investigaciones.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Especies Vegetales

3.1.1 “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.)

3.1.1.1 Historia

La historia de la planta de la “manzanilla” comienza en el antiguo Egipto, donde se mencionó por primera vez como una cura para la fiebre, a menudo llamado el “ague”, Las flores trituradas también se frotaban sobre la piel como un cosmético, los egipcios utilizaron su esencia como ingrediente principal en el embalsamamiento de aceite para preservar faraones fallecidos.

La palabra “Manzanilla” viene de la antigua Grecia, Chamomaela, esto significa manzana molida. Ha sido utilizada como planta medicinal desde hace siglos. A lo largo de la historia, la “Manzanilla” ha sido y sigue siendo utilizada en una variedad de maneras. La “Manzanilla” es una especie cuyo uso se ha extendido a todos lugares del mundo, tanto desde el punto de vista popular como en fitoterapia.

En la actualidad la “Manzanilla” o “Camomila” es un nombre genérico empleado para denominar diferentes especies botánicas que se usan en infusión principalmente como como calmante y para regular los procesos digestivos.⁽⁸²⁾

3.1.1.2 Generalidades

- Nombre Común: “Manzanilla común”, “Manzanilla de Aragón”, “Camomilla”, “Manzanilla alemana”, “Alhibar”, “Alhívar”, “Camomila”, “Magarza”, “Magarzuela”, “Manzanilla loca”, “Manzanillón”. ⁽²⁹⁾
- Nombre Científico: *Matricaria chamomilla* L. ⁽²⁹⁾

- Hábitat: Es una hierba anual que se ha escapado a la vida silvestre y naturalizado en casi todos los continentes, es de fácil cultivo, y prefiere pleno sol y luz, bien drenado. ⁽²⁹⁾
- Distribución geográfica: La familia se distribuye en todo el mundo a excepción de la Antártida; Es especialmente diversa en las regiones tropicales y subtropicales de América del Norte, los Andes, el sur de África, la región mediterránea. Asia Central y suroeste de China. ⁽²⁹⁾
- Clasificación taxonómica:

Cuadro N° 1. Taxonomía de la Manzanilla⁽⁴⁹⁾

| | |
|---------|-------------------------------|
| Dominio | Eucaria |
| Reino | Plantae |
| Filo | Magnoliofitas (Angiosperma) |
| Clase | Magnoliopsida (Dicotiledónea) |
| Orden | Asterales |
| Familia | Asteraceae |
| Género | Matricaria |
| Especie | Chamomilla |

3.1.1.3 Descripción botánica

Hierbas anuales, aromáticas, hasta 45 cm de alto; tallos erectos, ramificados, estriados, glabros. Hojas alternas, de contorno oblongo, 5-7 cm de largo, 2-3 pinnatífidas, con 10-12 segmentos lineares o filiformes, apareados.⁽³⁰⁾

Capitulescencias solitarias o raramente en corimbos laxos, pedúnculos 1-9 cm de largo; capítulos radiados, heterógamos, 5-6 mm de largo y de ancho (excluyendo los radios); involucros hemisféricos; filarias en 2 series iguales, lanceoladas a oblanceoladas, 2.5-3 mm de largo y 0.3-0.8mm de ancho, ápice agudo a obtuso, margen membranáceo, café; receptáculos cónicos, desnudos, alargándose en el fruto; flósculos del radio 12-15, pistilados, fértiles, las lígulas oblongas, 5-8 mm de largo y 2-3 mm de ancho, dentadas, blancas; flósculos del disco 200-400, las corolas tubulares, 1.2-1.5 mm de largo, amarillas. Aquenios obovados, 0.6-0.9mm de largo, truncados en el ápice, dorsalmente lisos, con 3-5 costillas en la parte interna, glabros; vilano ausente o una corona membranosa, fimbriada, blanca, 0.3-0.9mm de largo en el disco, 1.3-1.9 mm de largo en el radio. Cultivada en jardines, nativa de Eurasia, comúnmente se la vende en los mercados de Centro y Sudamérica.⁽⁷⁰⁾



Figura N° 1. *Matricaria chamomilla* (L). ⁽⁹¹⁾

3.1.1.4 Usos etnobotánicos

La forma más corriente de administrar la "Manzanilla" es en infusión, que se prepara con media docena de cabezuelas por taza y administrándola lo más caliente posible, con o sin azúcar.

Se emplea en las afecciones del aparato digestivo, espasmos intestinales y en las menstruaciones dolorosas. En uso externo tiene marcada acción antiinflamatoria y antiséptica; también se emplea como colirio en caso de conjuntivitis. En cosmética forma parte en la composición de cremas, ungüentos, lociones, tónicos para pieles débiles.⁽⁶⁾

Se usa para el nerviosismo, dolores de cabeza, ansiedad, digestivo, y la histeria. También es beneficioso para los resfriados y la gripe, dolores menstruales, tés, ambientadores, enjuague el cabello, cosméticos, repelentes de insectos, colorantes, compañero de la plantación y paisajismo.

Se utiliza para la ansiedad y el insomnio y las cefaleas. Se usa tópicamente para una serie de desórdenes que incluyen; acné, blefaritis, conjuntivitis, eczemas, quemaduras, neuralgias, heridas, contusiones, estomatitis, vulvovaginitis y distrofias de la mucosa vaginal, inflamación anogenital.

En la medicina homeopática se utiliza de manera interna para el tratamiento de la diarrea y flatulencia.⁽⁷⁰⁾

Es beneficiosa para los resfriados y la gripe, dolores e irregularidades menstruales, fiebre, vértigo, picadura de insectos y dermatitis.

El extracto alcohólico de las hojas, raíces secas y el aceite esencial son utilizados en la fabricación de bebidas y perfumes.

La dosis diaria para adultos recomendada es de 2 a 8 g de flores de manzanilla, tres veces al día.⁽⁹⁾

3.1.1.5 Metabolitos secundarios

Los principales constituyentes de la planta son las sesquiterpenlactonas de las cuales el partenólido es el más importante, matricina, matricarina y desacetilmatricarina. Se ha logrado aislar e identificar mediante métodos espectroscópicos y comparación con datos de la literatura, seis compuestos, dos de ellos nuevos, una lactona sesquiterpénica, denominada matricolona y un monoterpenoglicosido el chamolol.⁽⁴⁰⁾

La matricina y su producto de degradación conocido como camazuleno son los principales responsables del característico color azul del aceite esencial.

También se han encontrado flavonoides (1-3%): Constituyen junto a los mucílagos el grupo hidrofílico de la droga. Fueron identificadas numerosas flavonas y flavonoles metoxilados, entre ellos apigenina (mayoritaria) y quercitina. Otros: (Santina, jaceidina, centaureidina, luteolina, guaianólidos.

El aceite esencial contiene alcanfor, acetato de crisantenilo, alfa-pineno, limoneno, beta-cariofileno y eugenol.⁽⁹⁾

El aceite volátil de la “Manzanilla” contiene sesquiterpenos, incluyendo matricina y el constituyente de la fragancia Farnesol.

Los capítulos florales contienen aceite esencial (0.2-1.8%) constituido principalmente por: camazuleno (1-15%), (-)- α -bisabolol (10-25%), éter cíclico polieno, ino (1-10%), 1,8-cineol y diversos hidrocarburos.

Se ha demostrado que la planta posee cumarinas: dioxicumarina, herniarina y umbeliferona; carotenos; vitamina C; Ácido salicílico y esteroides derivados del estigmasterol, apiína, jolina y fitosterina.⁽⁴⁷⁾

También contiene mucílagos, el cual es el componente mayoritario el rhamnogalacturonan.⁽⁷⁾

Otros compuestos son: ácido valeriánico, taninos, ácidos grasos, mucílagos urónicos (10%), esteroides derivados del estigmasterol, ácidos fenólicos, ácido

angélico, mucopolisacáridos, principio amargo (ácido antémico), sales minerales (8-10%), triacontano y fitosterina (resinas).⁽⁴⁹⁾

3.1.1.6. Actividades biológicas

La “manzanilla” tiene propiedades digestivas, hepáticas, biliares, antiespasmódica sedante suave, bactericida, fungicida, antiséptica, diurético, antiinflamatorio.⁽⁶³⁾

Los usos terapéuticos están principalmente relacionados con las propiedades antiinflamatorios que le otorga el camazuleno y bisabolol, de igual manera este último, se incluye en el tratamiento de enfermedades de la piel, mejora la cicatrización de heridas, supresión de liberación de histamina, inhibición de la migración de leucocitos y posee efecto antiulceroso.⁽³²⁾ Asimismo, los esteroides tendrían un papel importante dentro del proceso antiinflamatorio, ya que favorecen la liberación de la hormona adrenocorticotropa (ACTH) a nivel suprarrenal.⁽⁶³⁾

Su utilización en la industria cosmética se debe a que posee propiedades antisépticas y antiinflamatorias que permiten la neutralización de la piel e irritaciones. Sus productos están indicados para personas con pieles sensibles.⁽⁶⁴⁾ La acción conjunta de flavonoides, taninos y compuestos fenólicos presentes en un preparado dermatológico con “Manzanilla” ha demostrado un efecto benéfico similar al demostrado por hidrocortisona (0.25%), en procesos de eczemas simples y dermatitis de diferente etiología.⁽²⁷⁾

El extracto acuoso tiene acción espasmolítica, mientras que el extracto alcohólico tiene acción bacteriana y acción antiinflamatoria. Los compuestos encargados de esta actividad son el camazuleno y bisabolol, también el camazuleno tiene un notable efecto gonadotrópico hormonal.⁽⁴⁰⁾

La actividad antiespasmódica que presentan los extractos de manzanilla genera una potencia equivalente al 87% de papaverina y N-metilbromuro de

escopolamina; y del 50-60% de atropina, según ensayos en íleon de cobayo bajo inducción contráctil con cloruro de bario y acetilcolina. En este mismo estudio se determinó que la decocción de manzanilla incrementa la dosis necesaria de histamina o acetilcolina para producir contracción del músculo liso.⁽⁴⁷⁾

El extracto acuoso de la flor seca fue activo como un antiulceroso.⁽⁸²⁾

La infusión se utiliza principalmente como sedante suave y ansiolítica, probablemente por la acción de la apigenina sobre los receptores centrales de benzodiazepinas.⁽⁸¹⁾

3.1.1.7 Otros estudios

La “Manzanilla” generalmente es considerada un remedio natural seguro. Está clasificada por la FDA en la categoría “Gras” que significa que es considerado generalmente seguro.⁽²⁷⁾

El uso moderado de su infusión no ha demostrado contraindicaciones; El empleo de infusiones de hojas y flores secas no registra ningún riesgo en las dosis usuales de 240 mL cada 6 u 8 horas. Sin embargo, un excesivo consumo puede provocar un efecto emetizante. En casos de sobredosis en humanos se ha observado vómitos y vértigo.⁽⁸²⁾

Se ha demostrado que la “Manzanilla” puede inducir reacciones alérgicas o anafilácticas a personas que poseen sensibilidad al contacto con el polen. Se han reportado casos de dermatitis por contacto. El uso de lavativas oculares con infusiones de manzanilla ha provocado algunos casos de angioedema y conjuntivitis alérgica testeados por incrementos de inmunoglobulina E, ya que una concentración elevada de este tipo de anticuerpos puede ser un signo de una reacción desproporcionada del cuerpo ante determinados alérgenos. Esto se le atribuye al polen contenido en dichas infusiones.⁽⁸¹⁾

Se recomienda no administrar el aceite esencial puro por vía oral durante embarazo, lactancia y niños menores de 6 años.⁽⁴⁷⁾

El consumo excesivo de la planta puede incrementar el riesgo a sufrir una hemorragia en caso de recibir simultáneamente una terapia con anticoagulantes, debido a la presencia de cumarinas; también puede amplificar el efecto sedativo. La planta puede alterar el metabolismo hepático de ciertos fármacos.⁽⁸¹⁾

3.1.2 “Té Verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

3.1.2.1 Historia

La planta del “té” y su consumo tienen una tradición milenaria en el Sureste de Asia, se estima su origen en unos 4500 años. A Japón llegó el “té” hacia el 800 d.C. Su introducción en Europa no está aclarada completamente.⁽³⁶⁾

En China se mantuvo durante mucho tiempo cierto secretismo en cuanto al cultivo del “té” de manera que se retrasó bastante su introducción en occidente, incluso se pensaba que el té verde y el té negro procedían de dos especies diferentes. Algunos autores estiman que fueron los holandeses los que introdujeron el “té” hacia 1610. Fue en los jardines botánicos donde primero se cultivaron las primeras plantas, más como una curiosidad que como el principio de su cultivo.⁽³⁶⁾

3.1.2.2 Generalidades

- Nombre común: “Té verde”
- Nombre científico: *Camellia sinensis* (L.) Kuntze.⁽⁴⁾
- Hábitat: Se trata de un arbusto de porte bajo, muy ramificado y perennifolio que puede alcanzar hasta los 10 metros de altura. Se reproduce por semillas o esquejes vegetativos, y para su desarrollo

requiere climas cálidos, húmedos y suelos ácidos, fértiles y permeables.⁽⁴⁾

- Distribución: La planta del “té” procede del sur de China y sudeste de Asia, aunque hoy se cultiva alrededor del mundo, tanto en regiones tropicales como subtropicales.⁽⁴⁾
- Clasificación taxonómica:

Cuadro N° 2. Taxonomía del Té verde⁽⁴⁾

| | |
|---------|---------------|
| Dominio | Eucaria |
| Reino | Viridiplantae |
| Filo | Espermatófita |
| Clase | Dicotiledónea |
| Orden | Theales |
| Familia | Theaceae |
| Género | Camellia |
| Especie | Sinensis |

3.1.2.3 Descripción botánica

Arbusto o pequeño árbol de hasta 6m. Hojas alternas, persistentes, elípticas, lanceoladas, margen finamente serrado o dentado, ápice agudo, obtuso o acuminado, base cuneada, haz glabro, envés vellosa. Flores solitarias y axilares o en cimas paucifloras, blancas, bracteólas 2-3, cilioladas, caducas, claramente pediceladas. Cáliz con 5-6 sépalos persistentes en el fruto, anchamente ovados u orbiculares, margen membranoso y ciliolado. Corola con 7-8 pétalos,

anchamente ovados a suborbiculares; estambres externos unidos a la base; gineceo de 3 carpelos soldados, con estilo trífido. Fruto cápsula loculicida, globosa, con 1-3 lóculos y con 2-3 semillas por lóculo.⁽⁴⁾



Figura Nº 2. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze.⁽⁹¹⁾

3.1.2.4 Usos etnobotánicos

El té es una infusión de las hojas y brotes de la planta del té (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). La popularidad de esta bebida es solamente sobrepasada por el agua. Su sabor es fresco, ligeramente amargo y astringente. ⁽³⁶⁾

Es utilizado para prevenir algunas enfermedades cardiovasculares, ya que ayuda a reducir los triglicéridos y el colesterol de baja densidad.⁽³⁶⁾

Fortalece los vasos sanguíneos y muy bueno para personas que sufren de arteriosclerosis, hipertensión u otras enfermedades, permite reducir el riesgo de sufrir muchos tipos de cáncer, como el cáncer de vejiga, ovarios, páncreas y esófago, ayuda a perder peso y reducir el riesgo de sufrir de la enfermedad de Parkinson, ayuda a mejorar la circulación sanguínea.⁽²¹⁾

El "Té verde" mejora la digestión, ya que tiene una alta cantidad de fibras y esto ayuda a los procesos gástricos.⁽³⁶⁾

Alivia la fatiga mental y se ha utilizado en el tratamiento de infecciones del tracto digestivo. En China, a menudo lo utilizan para tratar las migrañas. (64)

También se utiliza para prevenir la acumulación de placa en los dientes, y puesto que las hojas contienen un fluoruro natural, puede ser útil en la prevención de la caries dental.(64)

Investigadores suizos incluso tienen evidencia preliminar de que el “Té verde” acelera la quema de calorías de grasa en las personas que tienen sobrepeso.(36)

El “Té verde” es utilizado desde la antigüedad para el tratamiento de la diarrea, disentería y otras afecciones gastrointestinales. Los extractos de té, administrados por vía oral o aplicado en forma de compresas o cataplasmas son remedios muy eficaces en una variedad de enfermedades dermatológicas que van desde la picadura de insectos hasta quemaduras y heridas.(36)

3.1.2.5 Metabolitos secundarios

Todos los tipos de té están compuestos por un complejo químico de vitaminas; minerales; aminoácidos; principios aromáticos y metilxantina, cafeína, teobromina y teofilina, entre otros. (11)

Casi todas las sustancias polifenólicas del “Té verde” son flavanoles, catequinas o derivados de la misma. El más abundante, con mucho de los flavanoles es el galato de epi-galocatequina.(11)

Los principales constituyentes del té son los taninos, la materia nitrogenada (que incluye la cafeína), el aceite, la cera, la materia inorgánica (en particular las sales de potasio) y la fibra.(11)

La hoja de té no fermentada contiene proteínas (15-20%), aminoácidos (3% principalmente teanina = etilamida del ácido glutámico), glúcidos (5%), ácido ascórbico, vitaminas del grupo B, bases purínicas representadas

fundamentalmente por la cafeína (2-4%) y teofilina, además heterósidos de alcoholes triterpénicos, alifáticos y aromáticos (su hidrólisis libera constituyentes que contribuyen al aroma de la infusión).⁽⁹²⁾

Los compuestos fenólicos son especialmente abundantes (20% o más de la masa desecada, principalmente flavonoides), el contenido varía con la variedad, edad de la hoja (máximo en hoja joven) y la estación (máximo en verano).⁽³⁶⁾

En los flavanoles, las más abundantes son el epigalocatequingalato, la epigalocatequina y la galocatequina; Los ácidos epiteflávicos se originan de forma parecida a partir de las epicatequinas y el ácido gálico. Los arubígenos son grupos complejos de procianidinas poliméricas. Casi todas las sustancias polifenólicas del "Té" son flavonoides, catequinas o derivados de la misma. El más abundante, es el galato de epi-galocatequina, con unos 9-13% del peso seco.⁽¹¹⁾

El color entre verdoso y amarillo limón del té verde obedece por consiguiente a la presencia de los flavonoles y flavonas.

Enzimas: Una fracción importante de las proteínas la constituyen las enzimas.

Minerales: El "Té" contiene aproximadamente un 5% de minerales. El elemento principal es el potasio, que constituye casi el 50% del total. Muchas clases de té contienen gran cantidad de flúor (0.015-0.03%).⁽¹¹⁾

Compuestos aromáticos. Los compuestos volátiles constituyen alrededor del 0.01-0.02% del extracto seco del "Té". Es evidente que el aroma del té obedece a una equilibrada proporción de cierto número de compuestos claves. De los compuestos volátiles, el 1% son teaspiranos y teaspironas, el hidroxiteaspirano.⁽⁷⁶⁾

Aminoácidos. Los aminoácidos libres constituyen alrededor del 1% del extracto seco de las hojas de té. El 50% de estas cifras corresponden a la teanina (5-N-etilglutamina) y el resto a todos los demás aminoácidos de la proteína.

El “Té verde” contiene muchas más teaninas que el té negro. La teanina tiene importancia para el sabor del “té verde”. La biosíntesis se realiza en la raíz a partir del ácido glutámico y etilamina, que procede de la alanina. El compuesto luego es transportado hasta las hojas.⁽⁷⁶⁾

Cafeína. La cafeína constituye entre el 2.5-5.5% del extracto seco, resultando de gran importancia para el sabor del té. En cantidades muy inferiores hay además teobromina (0.07- 0.17%) y teofilina (0.002-0.013%).

Carbohidratos. Entre los azúcares se han encontrado glucosa (0.72%) y también fructosa, sacarosa, arabinosa y ribosa. La ramnosa y galactosa proceden de glucósidos. Como polisacáridos existen celulosa, hemicelulosa y sustancias pectínicas. En las hojas de té hay también inositol.⁽⁷⁶⁾

3.1.2.6 Actividades biológicas

Se le atribuyen diversas propiedades, estimulante por la cafeína, diurético, antioxidante; se sabe también que tiene un efecto protector contra las caries dentales y que su extracto puede utilizarse como purificador del aliento.⁽²⁶⁾

Se le atribuyen propiedades antioxidantes por los constituyentes fenólicos y su posible papel preventivo de afecciones cardiovasculares o cancerígenas. Los flavonoides del té son antimutagénicos in vitro oponiéndose a la formación de mutágenos (nitrosaminas) o a la expresión de su mutagenicidad (hidrocarburos policíclicos aromáticos).⁽²⁶⁾

Los galatos de catequina son reconocidos por poseer mayor capacidad antioxidante, entre éstos, la EGCG, la catequina de mayor presencia en el té ha sido identificada por diversos autores como la de mayor actividad antioxidante.⁽³¹⁾

Los flavanos captan radicales libres y, in vitro, se oponen a las reacciones de peroxidación de los lípidos. Hay datos que permiten pensar que el consumo regular de infusiones de té verde disminuye significativamente los niveles

sanguíneos de colesterol y triglicéridos, y la relación LDL/HDL, produciéndose por tanto un descenso del riesgo de arteriosclerosis y de la instauración de enfermedades cardiovasculares en los grandes bebedores de té (4 tazas/día). La adición de leche al “Té” puede hacer que las proteínas de la leche precipitan los fenoles e impedir su absorción. (31)

El aminoácido teanina influye positivamente sobre las concentraciones de dopamina y serotonina, neurotransmisores moduladores del estado anímico de las personas, causando efecto de relajación y sensación de bienestar. Del mismo modo se ha demostrado que su consumo tiene efecto en el incremento de la memoria, capacidad de aprendizaje y regulación de la presión sanguínea.(59) En un estudio realizado en 1500 mujeres postmenopáusicas mayores de 70 años, se compararon los efectos del consumo diario de “Té” (verde o negro) sobre la densidad ósea y la incidencia de fracturas. En comparación con las mujeres que no consumieron té durante el estudio, la densidad ósea fue significativamente mayor en las bebedoras de té y la pérdida de masa ósea y la incidencia de fracturas significativamente menor. Los autores atribuyen estos efectos beneficiosos del té al flavonoide, (-)-epigallocatequina-3-galato, que ha demostrado aumentar la expresión de los genes osteogénicos, la concentración de marcadores de la actividad ósea. (66)

3.2 Breve Historia de las infusiones

El “Té” después del agua es la bebida de mayor consumo mundial. Sin embargo, no siempre fue así, ya que su introducción, particularmente en occidente, es relativamente reciente. China es el país de origen del “Té” y su historia está revestida de misterio, fábula y misticismo, pero también de acontecimientos con respaldo históricos.(92). El “Té” es una de las bebidas más antiguas apreciadas por el hombre. Es de origen asiático, a las leyendas chinas se les atribuye el descubrimiento del “Té” durante el reinado del emperador Shen Nung, aproximadamente en el año 2737a.C.(25) La tradición relata que

este fue envenenado, o se intoxicó casualmente. Sin embargo, pudo superar la crisis digestiva consumiendo una infusión de las hojas de un árbol, el árbol del “Té”. Otra versión relata que mientras Shen Nung descansaba bajo un árbol de “Té”, cayó en el recipiente en que bebía agua caliente una hoja de este. La curiosidad lo llevó a probar lo que sería la primera infusión de “Té”, la cual le pareció refrescante y estimulante.⁽⁹²⁾ Fue así como durante la dinastía Sung, se introdujo la costumbre de consumir “Té” entre sus seguidores, alcanzando rápidamente trascendencia y popularidad.⁽⁹⁾

El “Té” se introdujo en Europa en el siglo XVIII por Marco Polo, luego de sus épicos viajes a Oriente. A comienzos del siglo XIII, la Compañía Holandesa de las Indias Orientales aseguraba el comercio con Asia; así mismo comenzó a ser popular en Holanda a mediados del siglo XVII, con posterioridad los holandeses lo introdujeron en el resto de Europa.⁽⁹⁾ Hasta principios del siglo XIX, China era aún el único país productor de “Té” en todo el mundo. En 1834 el cultivo fue introducido en India y en 1857 en Ceylán (Sri Lanka). Hoy el “Té” se cultiva en una treintena de países en Asia, Oceanía, África y Sudamérica.⁽²⁵⁾

Quizás el hecho más reciente, es la brillante idea de un comerciante neoyorquino, Thomas Sullivan, a quien en 1902 se le ocurrió ofrecer el “Té en bolsitas filtrantes”. Lo ocurrido después ya es conocido y actualmente la “cultura” de consumo de “Té” no solo se atribuye a lo gratificante que resulta consumirlo en sus diferentes formas, sino además a los efectos benéficos para la salud, que se atribuyen a esta bebida y que cuentan con un sólido respaldo científico.⁽⁹²⁾

3.3 Infusiones

Las infusiones son consideradas una bebida tradicional medicinal y representan la forma líquida más sencilla y popular de preparar bebidas a base de productos naturales considerados con un amplio rango de acciones terapéuticas

beneficiosas para la salud.⁽³⁴⁾ Cabe mencionar que dentro de los procesos de investigación de productos naturales existe un método de extracción y preparación de productos naturales nombrado bajo el mismo término de “infusión” que proviene de la acción de un solvente sobre la planta, la cual puede estar deshidratada, entera o en partes trituradas; se tapa y se deja en reposo entre 2 y 5 minutos.⁽³⁴⁾ Respecto a este término se abordara con más detalle en el apartado 6.4 de métodos de extracción, de esta investigación.⁽³⁴⁾

Dentro de los órganos de las plantas medicinales utilizadas como infusiones comprenden hojas, flores, frutos, semillas, tallos, corteza, raíces, plantas enteras o partes de plantas. Utilizando diversos procesos de secado, evaporación, horneado, trituración o molido.⁽³⁴⁾

Así como también diversos métodos de extracción de metabolitos secundarios en función de las propiedades de estos y de las características del material vegetal como, por ejemplo: para las infusiones se recomiendan las partes delicadas como tallos, flores y hojas; para la decocción partes más robustas como raíces, cortezas y semillas. Ya que es importante conocer en qué parte de la planta se sustenta la actividad terapéutica del producto herbario.⁽³⁴⁾

Entre los principales contaminantes de las plantas utilizadas como infusiones se encuentran residuos de plaguicidas, toxinas y metales pesados tóxicos, residuos químicos potenciales a los que pueden estar expuestos durante la plantación, el almacenamiento o durante el consumo.⁽³⁴⁾

La mayoría de los productos herbarios son utilizados en sustitución de la medicina tradicional, ya que representan unos de los métodos más antiguos utilizados para tratar enfermedades por sus efectos benéficos, sin embargo, las diversas fuentes de contaminación pueden representar un riesgo para la salud.⁽³⁴⁾

3.4 Métodos de Extracción de Drogas Crudas

Los procesos de extracción de drogas crudas en el campo de los productos naturales comprenden aquellas operaciones que tienen por objeto la separación de los principios solubles de las drogas vegetales.⁽⁴⁵⁾ Por lo que con la finalidad de lograr una concentración adecuada de los activos contenidos en las plantas, se debe tomar en cuenta que existen diferentes métodos para extraer los metabolitos secundarios contenidos en ellas (Ver Figura N°3), los cuales necesitan de un líquido extractivo que va a depender de las propiedades físicas y químicas de los metabolitos que se pretendan extraer.⁽¹⁶⁾

Los métodos de extracción que se aplicaran en esta investigación son los de extracción con disolvente. Estos se dividen en Métodos de extracción discontinua y Métodos de extracción continua, los cuales se describen a continuación. ⁽⁴⁵⁾



Figura N° 3. Esquema de métodos extractivos de drogas crudas. ⁽⁴⁵⁾

3.4.1 Extracción discontinua

La droga se pone en contacto con el disolvente por lo que la difusión de los principios activos se producirá en todas las direcciones hasta alcanzar el equilibrio. Entre los métodos de extracción discontinua podemos mencionar: maceración, digestión, reflujo, infusión, decocción, extracción asistida por ultrasonido y extracción por microondas.^(22,45)

Los métodos de extracción discontinua mayormente utilizados se describen a continuación:

Maceración: consiste en el contacto prolongado durante cierto tiempo de la droga vegetal con el solvente extractor. En el cual el solvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, en todas las direcciones y sentidos, disolviendo los componentes solubles hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular; a este proceso se le conoce como difusión pasiva. A partir de este método no se consigue el agotamiento total de las sustancias extraíbles y es un proceso lento.⁽¹³⁾

Maceración asistida por ultrasonido: el material vegetal y el disolvente se tratan con extracción asistida por ultrasonidos, empleando sonidos de alta frecuencia para extraer el compuesto buscado en el material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica y como consecuencia el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al disolvente. Reduciendo así el tiempo de extracción y aumentando la eficacia del proceso.⁽⁴²⁾

Infusión: es el proceso en el cual se somete la droga previamente humedecida con el solvente frío, luego se pone en contacto con el solvente a una temperatura próxima a la de ebullición del agua por cinco minutos. Por último, se deja enfriar el conjunto hasta temperatura ambiente. ⁽⁴⁵⁾

3.4.2 Extracción Continua

En este tipo de extracción el disolvente utilizado se va renovando y actúa en una sola dirección. La droga se pone en contacto con el disolvente adecuado y en todo momento se mantiene el equilibrio entre la concentración de principio activo en la droga y en el disolvente, para que se produzca una difusión celular. Dentro de los métodos de extracción continua se encuentran:⁽²²⁾

Percolación: el disolvente atraviesa la masa de droga pulverizada siempre en un solo sentido y se renueva de modo continuo, debido a ellos, mantiene el gradiente de concentración lo más alto posible. Por lo que la droga bañada siempre por nuevas porciones de disolvente acaba por ceder todos sus componentes solubles de manera progresiva. Este tipo de extracción se realiza en percoladores cilíndricos o cónicos que poseen dispositivos de carga y descarga, lográndose una extracción total de los principios activos.^(16,32)

Soxhlet: es un sistema de extracción en el cual el material vegetal es colocado en un cartucho de celulosa o papel filtro en el depósito superior del aparato al inicio del proceso, mientras que el solvente de extracción cumple un ciclo de extracción y purificación continua. La purificación se realiza en forma paralela por destilación del solvente. Al calentar el matraz, el vapor del disolvente asciende por el tubo lateral y condensa en el refrigerante cayendo sobre el sólido que se encuentra en el cartucho. De manera que el sustrato siempre está en contacto con el solvente puro. Se utiliza este método cuando es necesaria una extracción exhaustiva de la droga y tiempos más cortos de extracción.^(32,45)

3.5 Análisis Fitoquímico Preliminar

El análisis fitoquímico nos ayuda a autenticar la identidad del material vegetal.⁽³⁰⁾ La identificación química, se apoya de diferentes pruebas cualitativas como pruebas en tubos de ensayo, ampollas de separación, pruebas colorimétricas, cromatográficas o espectroscópicas, entre otras, con el

fin de identificar la presencia de los constituyentes químicos de las plantas.⁽³²⁾⁽⁴⁵⁾ Los compuestos metabólicos encontrados en los tejidos vegetales pueden ser divididos en metabolitos primarios, que son los involucrados en los procesos fisiológicos de la planta; o los metabolitos secundarios, compuestos que no son absolutamente necesarios para los procesos de vida de la planta y que son conocidos por ser de utilidad para el hombre.⁽³²⁾

Por lo tanto, el análisis fitoquímico tiene como objetivo general la determinación cualitativa de los principales grupos químicos presentes en el material vegetal y que, por lo general, son los grupos responsables de la actividad farmacológica de las plantas. Estos ensayos son simples y pueden utilizarse de forma general para la caracterización de extractos obtenidos de material vegetal, pudiendo identificar la presencia de alcaloides, flavonoides, taninos, saponinas, glicósidos cardiotónicos, antraquinonas, cumarinas y terpenoides.⁽³²⁾ El Cuadro N°3. presenta las pruebas que se realizarán durante el análisis fitoquímico preliminar de las muestras de material vegetal e infusiones de “manzanilla” y “té verde”.

Cuadro N° 3. Pruebas de Identificación de Metabolitos Secundarios.⁽⁴⁵⁾

| Metabolitos | Pruebas de Identificación | Parte de la molécula identificada |
|--------------------------|--|---|
| Glicósidos Saponínicos | Método de la espuma | Toda la molécula |
| | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de Komarowski | Tipo de aglicona |
| Glicósidos Cardiotónicos | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de Kedde A y Kedde B | Lactona insaturada |
| Flavonoides | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de tricloruro de aluminio 1% en etanol, fluorescencia a 365 nm | Sistema de anillos C ₆ -C ₃ -C ₆ |
| Antraquinonas | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de hidróxido de potasio 5% en metanol | Núcleo antracénico por la resonancia de OH fenólicos |

Cuadro N° 3. (Continuación)

| | | |
|-----------------------|---|---|
| Taninos | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de tricloruro de hierro 1%. | Toda la molécula |
| Alcaloides | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de Dragendorff. | Toda la molécula |
| Sesqui-terpenlactonas | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de Baljet. | Lactona insaturada |
| Cumarinas | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de hidróxido de potasio al 5% en metanol, fluorescencia a 365 nm. | Lactona insaturada |
| Terpenoides | Cromatografía de capa fina con reactivo revelador de Vainillina | Toda la molécula a través de sus OH fenólicos |

3.6 Métodos de separación de metabolitos secundarios

La separación de los principios activos se puede llevar a cabo por métodos fisicoquímicos no cromatográficos o por métodos cromatográficos.⁽²⁷⁾ Estos últimos serán los aplicados en esta investigación, específicamente la cromatografía en capa fina de la cual se hablará más a detalle a continuación.

3.6.1 Métodos cromatográficos

La cromatografía es un método muy utilizado en todas las ramas de la ciencia que permite la separación, identificación y determinación de los componentes químicos en una mezcla compleja. Los métodos cromatográficos son procesos que abarcan varias técnicas separativas, basadas en propiedades físicas y propiedades químicas de las sustancias o mezclas de sustancias.⁽⁸⁶⁾ La cromatografía es una técnica que permite la separación de los componentes en una mezcla debido a la influencia de dos efectos contrapuestos:⁽⁸⁶⁾

- Retención: efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase estacionaria, que puede ser un sólido o un líquido anclado a un soporte sólido.⁽⁸⁶⁾
- Desplazamiento: efecto ejercido sobre los componentes de la mezcla por una fase móvil, que puede ser un líquido o un gas.⁽⁸⁶⁾

La mezcla por separar se deposita sobre la fase estacionaria y la móvil atraviesa el sistema desplazando a los compuestos de la mezcla a distinta velocidad, dependiendo de la magnitud de sus interacciones relativas con ambas fases. La repetición sucesiva de las operaciones elementales de retención y desplazamiento a lo largo del sistema cromatográfico da lugar a la separación de la mezcla original. El fenómeno de migración de los componentes de una mezcla a lo largo de la fase móvil recibe el nombre de elusión.⁽⁸⁶⁾

3.6.1.1 Cromatografía en capa fina

La cromatografía de capa fina es una técnica de separación en la cual la fase estacionaria es esparcida sobre un soporte (placa) de vidrio, metal o plástico, como una capa delgada y uniforme.⁽³²⁾ La mezcla a analizar se deposita a una pequeña distancia del borde inferior de placa y se introduce en una cámara cromatográfica que contiene la fase móvil (eluyente), la cual asciende a lo largo de la placa por capilaridad, desplazando a los componentes de la mezcla a diferentes velocidades, lo que provoca su separación. Cuando el frente del disolvente se encuentra próximo al extremo superior de la placa, esta se saca de la cámara cromatográfica. se deja secar y se procede a la visualización de las manchas.⁽⁴⁸⁾ (Ver Figura N°4)

La mayor parte de las placas de cromatografía llevan un indicador revelador fluorescente que permite la visualización de los compuestos activos a la luz ultravioleta a través de una mancha en la placa que indica la presencia de un compuesto. En el caso de compuestos que no absorban la luz UV, la

visualización requiere un agente revelador, que tiende a reaccionar con los compuestos eluidos proporcionando compuestos coloreados. Por tanto, el revelador a utilizar depende del tipo de compuesto que se pretenda visualizar.⁽⁴⁸⁾

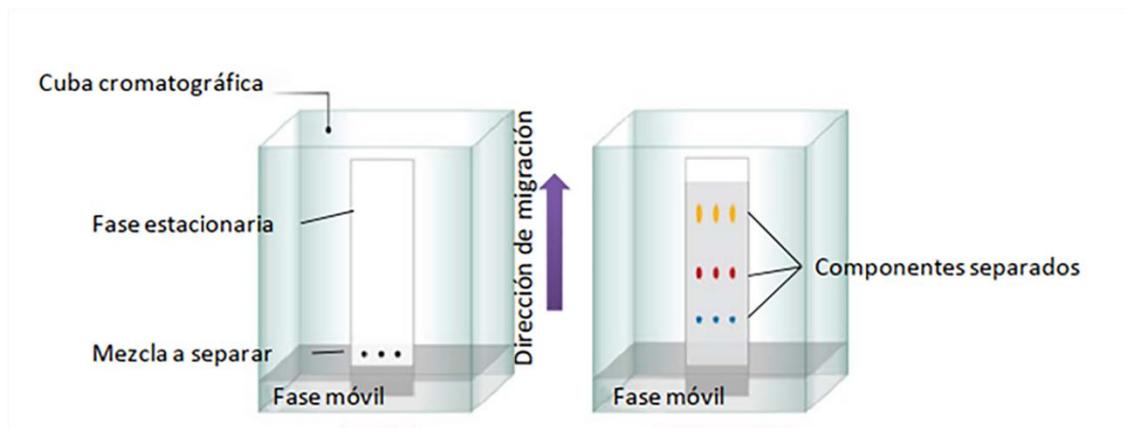


Figura N° 4. Representación gráfica de separación de componentes de una mezcla por cromatografía de capa fina.⁽⁸⁶⁾

3.6.2 Determinación del factor de reparto (R_f)

La relación entre las distancias recorridas por un compuesto y el disolvente, desde el punto de aplicación del cromatograma, se conoce como R_f (abreviatura de rate factor), y tiene un valor constante para cada compuesto bajo condiciones cromatográficas determinadas (adsorbente, disolvente, tamaño de cámara cromatográfica, temperatura, etc.).⁽⁴⁸⁾ (Ver Figura N° 5)

Debido a que es prácticamente imposible reproducir dichas condiciones experimentales, la comparación de una muestra con otra se debe realizar eluyendo ambas en la misma placa.⁽⁴⁸⁾

Para calcular el R_f se aplica la siguiente fórmula:

$$\text{Ecuación N}^\circ 1. R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la muestra}}{\text{distancia recorrida por la fase móvil}}$$

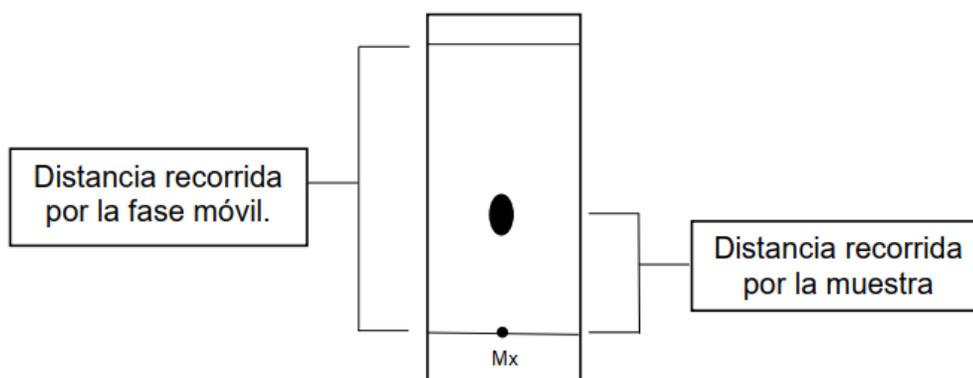


Figura N° 5. Placa cromatográfica donde se identifican las distancias a medir para calcular el factor de reparto.⁽³⁵⁾

3.7 Control de calidad de plantas medicinales

Los productos medicinales herbarios se elaboran a partir de materias primas de origen vegetal, los cuales pueden estar sujetos a contaminación y deterioro. El control de calidad de las materias primas, el almacenamiento y el proceso tienen especial importancia a causa de la naturaleza compleja y variable de muchos de estos productos.⁽²³⁾

La OMS ha establecido las siguientes especificaciones de calidad para plantas medicinales: caracterización botánica, caracterización fitoquímica, e impurezas. También aplican especificaciones como parte de la planta utilizada, características organolépticas, características microscópicas, determinación de cenizas totales, límites microbianos, pesticidas y metales pesados.⁽²³⁾

Según la OMS los contaminantes en los productos herbarios se clasifican en:

- Contaminantes fisicoquímicos: Este grupo incluye a contaminantes químicos, específicamente materiales tóxicos y peligrosos como metales pesados, contaminantes orgánicos persistentes, nucleidos radioactivos y toxinas biológicas.⁽⁵⁹⁾

- Contaminantes biológicos: Este grupo incluye a microorganismo como bacterias y hongos; así como también organismos y/o animales como parásitos, insectos o desechos animales.
- Agentes agroquímicos y disolventes orgánicos⁽⁵⁹⁾

De igual forma las directrices de la OMS indican que la contaminación debe evitarse y controlarse mediante medidas de garantía de calidad, como las buenas prácticas de agrícola y de recolección (BPA) para las plantas medicinales, las buenas prácticas de fabricación (BPF) para las medicinas a base de hierbas. ⁽⁵⁹⁾

3.7.1 Contaminación por Metales Pesados

De acuerdo con la Unión Europea, contaminación se define como “la introducción directa o indirecta de sustancias, vibraciones, calor o ruido en el aire, agua o el suelo como consecuencia de la actividad humana, y que pueden ser nocivos para la salud del ser humano o la calidad del medio ambiente, causar daño a la propiedad material, perjudicar o entorpecer las actividades recreativas y otros usos legítimos del medio ambiente”.⁽⁵¹⁾

Las concentraciones anómalas de metales pesados en el medio ambiente suelen deberse básicamente a dos tipos de factores: causas naturales y causas antropogénicas. Las causas naturales pueden ser la actividad volcánica, procesos de formación de suelos, meteoros, erosión de rocas, terremotos, tsunamis, entre otros. Las causas antropogénicas pueden ser de la minería, la combustión de carburantes fósiles, la industria a través de los vertidos, emisiones, residuos (incineración, depósito), como algunos pesticidas y fertilizantes, entre otros. ⁽⁵¹⁾ Pero a la vez nos podemos encontrar con zonas ambientales que posean niveles extraordinariamente elevados de metales pesados por causas naturales (por ejemplo, los suelos mineros), y no estar catalogados como suelos contaminados.⁽⁵¹⁾

Según la OMS la contaminación de materiales herbales con sustancias tóxicas como el arsénico puede atribuirse a muchas causas. Estos incluyen la contaminación ambiental (es decir, las emisiones contaminadas de las fábricas, la gasolina con el plomo y el agua contaminada que desemboca en ríos, lagos y mares, algunos plaguicidas), la composición del suelo y los fertilizantes. Esta contaminación del material herbal conduce a la contaminación de los productos herbarios durante varias etapas del proceso de fabricación. Los plaguicidas que contienen arsénico y mercurio se utilizaron ampliamente hasta hace unos años y todavía se utilizan en algunos países. Dado que es probable que las sustancias tóxicas estén presentes en muchos alimentos, debido a su abundancia en la naturaleza, es importante tener en cuenta que la ingestión concomitante de productos a base de hierbas aumentaría la concentración total de metales tóxicos consumidos por las personas, incluso si se siguen las pautas de buenas prácticas.⁽⁵⁹⁾

En El Salvador, en el junio del año 2007. Se presentó un “Caso de contaminación por Plomo ocasionado por la Empresa Baterías de El Salvador S.A de C.V” conocida como Baterías Record, debido a la materia prima que utilizaba para su elaboración, entre ellos el plomo y ácido, materiales altamente tóxicos, nocivos para la salud humana. Las personas de la zona, residentes en el Sitio del Niño, en el municipio de San Juan Opico, departamento de la Libertad, presentaron un incremento de enfermedades respiratorias, renales e incluso leucemia. De igual forma la Unidad de Ecología Salvadoreña (UNES), en un boletín de prensa denunció la problemática ya referida y agregó estudios de contaminación en la zona, donde se observaban en los alrededores de la fábrica aves muertas, corrosión en la malla ciclón y el hierro de las instalaciones.⁽⁷⁸⁾

Por tanto, la contaminación ambiental se posiciona como uno de los más importantes problemas que afectan a la sociedad del siglo XXI. La pérdida de

calidad del aire, del recurso hídrico y de suelos disponibles para actividades agrícolas se ha incrementado exponencialmente; las cuales a su vez representan unas de las más severas problemáticas que comprometen la seguridad alimentaria y salud pública a nivel local y global.⁽⁷⁹⁾

3.8 Buenas Prácticas Agrícolas

Las buenas prácticas agrícolas (BPA) son un conjunto de principios, normas y recomendaciones técnicas aplicables a la producción, procesamiento y transporte de alimentos, orientadas a cuidar la salud humana, proteger el medio ambiente y mejorar las condiciones de los trabajadores y su familia.⁽⁵³⁾

La inocuidad y la calidad de las materias primas vegetales medicinales y de los productos acabados depende de factores que se pueden clasificar en intrínsecos (genéticos) o extrínsecos (medio, métodos de recolección, cultivo, cosechado, procesado postcosecha, transporte y prácticas de almacenamiento).⁽⁵⁵⁾

Existen aspectos técnicos comunes de las BPA que contribuirán a asegurar la inocuidad y la calidad en la etapa primera y más importante de la producción de medicamentos herbarios, entre estos se encuentran:⁽⁵⁵⁾

- Todas las materias vegetales medicinales deben inspeccionarse y deben eliminarse los productos de calidad inferior o materias extrañas.
- Secado: El contenido de humedad de las materias vegetales medicinales preparadas para su uso en forma seca debe mantenerse lo más bajo posible, con el fin de reducir daños por mohos y microbios.
- Envasado a granel y etiquetado: Las materias vegetales medicinales procesadas deben envasarse lo antes posible para impedir que el producto se deteriore y para protegerlo contra la exposición innecesaria a posibles ataques de plagas y otras fuentes de contaminación.

- Almacenamiento y transporte: Los medios utilizados para el transporte a granel de materias vegetales medicinales deben limpiarse entre la descarga y la nueva carga. Deben almacenarse a una temperatura de refrigeración adecuada, idealmente de 2 a 8 °C.
- Materiales: Todos los equipos y herramientas utilizadas deben estar hechos de materiales que no transmitan sustancias tóxicas, olores o sabores, que no sean absorbentes y sean resistentes a la corrosión.⁽⁵⁵⁾

3.9 Metales Pesados

Los elementos metálicos son componentes naturales de la corteza terrestre. Tienen un papel sustancial en los organismos al ser parte primordial de sus funcionalidades bioquímicas y fisiológicas, caso contrario a los metales pesados los cuales en la actualidad representan un gran riesgo para la salud.⁽⁵⁰⁾ Así, los elementos metálicos dan lugar a diferentes tipos de compuestos:⁽²⁰⁾

- Metales en estado elemental
- Compuestos inorgánicos: halogenuros, hidroxilos, oxácidos
- Compuestos orgánicos: alquilos, acetatos, fenilos

Se definen como “metales pesados” aquellos elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm³ cuando están en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalinotérreos). Su presencia en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0.01%. No obstante, en primer lugar, conviene clasificar que el término “metales pesados” es impreciso. En verdad se pretende indicar con este término a aquellos metales que, siendo elementos pesados, son “tóxicos” para la célula. Por tanto, se mantendrá el término “metales pesados para definir dichos elementos.⁽⁵¹⁾

Junto a ellos hay otros elementos que, aunque son metales ligeros o no metales, se suelen englobar con ellos por orígenes y comportamientos asociados; es este el caso de As, B, Ba y Se. Los metales pesados se clasifican en dos grupos:⁽⁵¹⁾

- Oligoelementos o micronutrientes: necesarios en pequeñas cantidades para los organismos, pero tóxicos una vez pasado cierto tiempo umbral. Incluyen As, B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Se y Zn.
- Sin función biológica conocida: son altamente tóxicos, e incluyen Ba, Cd, Hg, Pb, Sb y Bi.⁽⁵¹⁾

3.9.1 Clasificación de elementos metálicos según la Agencia Europea (EMEA) - Directriz ICH Q3D (R1). Guía sobre impurezas elementales.

Los elementos incluidos en esta guía han sido asignados en tres clases basados en su toxicidad (exposición diaria permitida - PDE) y semejanza de ocurrencia. La semejanza de ocurrencia es derivada de diferentes factores incluyendo: probabilidad de uso en procesos industriales de manufactura, probabilidad de ser una impureza coaislada con otras impurezas elementales en materiales utilizados en proceso industriales, la abundancia natural observada y la distribución ambiental del elemento.⁽¹⁾

El esquema de clasificación tiene como objetivo centrar la evaluación del riesgo en aquellos elementos que son más tóxicos pero que también tiene una probabilidad razonable de inclusión en productos farmacéuticos. Las clases de impurezas elementales son:⁽¹⁾

Clase 1: los elementos son, As, Cd, Hg y Pb; los cuales son tóxicos para el ser humanos, tienen límites o ningún uso en procesos de fabricación.

Clase 2: los elementos de esta clase se consideran generalmente como humanos dependientes de la ruta. Por lo que se dividen en subclases, según su semejanza y ocurrencia en productos farmacéuticos:

- Clase 2A: Co, Ni, y V; con alta probabilidad de aparición en el producto farmacéutico y por lo tanto requieren evaluación de riesgos en todas sus fuentes potenciales de contaminación por impurezas.
- Clase 2B: Ag, Au, Ir, Pd, Pt; con baja probabilidad de aparición en el producto farmacéutico relacionado por su baja abundancia ambiental y bajo potencial de ser coaislados con otros materiales.

Clase 3: los elementos son Al, B, Ca, K, Mg, Mn, Na, W y Zn; los cuales tienen toxicidad relativamente baja por vía oral, pero pueden requerir consideración en la evaluación de riesgos por vía inhalatoria o parenteral (PDE > 500µg/día).⁽¹⁾

Tabla N° 1. Valores de referencia sobre la concentración de metales pesados según Normativas Internacionales. ^(1,18,19,58,60)

| Elemento | Clasificación de los elementos EMEA ⁽¹⁾ | Valores de Referencia | | |
|----------|--|--|-----------------------------------|--|
| | | Concentración oral permitida EMEA(µg/g) ⁽¹⁾ | OMS 2007 mg/kg ^(58,60) | Farmacopea Europea (µg/g) ^(18,19) |
| Arsénico | Clase 1 | 1.5 | 10.0 | - |
| Cadmio | Clase 1 | 0.5 | 0.3 | 1 |
| Níquel | Clase 2A | 20.0 | 10.0 (OMS 1999) | - |
| Plomo | Clase 1 | 0.5 | 10.0 | 5 |

3.9.2 Arsénico

3.9.2.1 Generalidades del Arsénico

El arsénico es un elemento de color gris, plateado, quebradizo y amorfo, clasificado como metaloide y, juntamente con el nitrógeno y el fósforo con los que comparte sus propiedades, forma parte del grupo V de la tabla periódica con un número atómico de 33. En estado oxidado, el As tiene la posibilidad de tener las valencias de +3 y +5. Se presenta en tres estados alotrópicos: gris, negro y amarillo. El de mayor estabilidad es el gris, como una masa cristalina, de aspecto metálico, brillante y frágil. El estado negro es un polvo amorfo y el arsénico amarillo presenta forma cristalina metaestable que se oxida a temperatura ambiente.⁽⁵⁰⁾

3.9.2.2 Fuentes de Exposición al Arsénico

El arsénico es un elemento natural de la corteza terrestre, distribuido en todo el medio ambiente y presente en el aire, agua y la tierra; siendo también causal de contaminación por actividades antropogénicas. Los compuestos arsenicales en estados de oxidación trivalente y pentavalente son los de mayor interés en estudios ambientales y los podemos clasificar en tres grupos, compuestos arsenicales orgánicos, compuestos arsenicales inorgánicos y la arsina.⁽⁴⁶⁾

En la naturaleza el arsénico es un metaloide que se encuentra libre y combinado con un gran número de minerales complejos que contienen cobre, plomo, y otros. La exposición al As ambiental es, en gran medida involuntaria y debe ser vista desde una perspectiva diferente a la ocupacional.⁽⁷⁵⁾ Actualmente, las sustancias arsenicales se utilizan en la industria, en la agricultura, ganadería y en la medicina. Por ello las fuentes de exposición del hombre a este metal son diversas destacando la laboral, la alimentaria y medicamentosa.⁽⁸⁸⁾ La exposición al arsénico deriva de varias fuentes como el uso y manufactura de pesticidas y herbicidas, minería y metalurgia, fundición y

refinación de metales, uso de combustibles fósiles, uso de medicamentos y remedios, contacto con maderas prensadas y tratadas con preservantes arsenicales, ingesta de agua contaminada y alimentos. La principal forma de exposición no ocupacional al arsénico es a través de alimentos y agua. Se estima que en Latinoamérica los alimentos contribuyen hasta en un 50% de la ingesta de As. El monitoreo de productos alimenticios indica que el arsénico está presente en todos los alimentos. Las concentraciones en los alimentos procedentes de diversos países varían mucho dependiendo del tipo de alimento, condiciones (tipo de suelo, el agua, la actividad geoquímica, el uso de pesticidas arsenicales) y técnicas de procesamiento.⁽⁴⁶⁾ En fin el arsénico siempre está presente en nuestra vida diaria.⁽⁸⁸⁾

3.9.2.3 Efectos Tóxicos del Arsénico en el ser humano

La ingesta de arsénico al ser humano puede ocurrir mediante tres vías principales: por inhalación de aire, por ingesta de alimentos y agua, y por absorción dérmica. La toxicidad del arsénico depende de su forma química y su estado de oxidación; así del arsénico inorgánico (iAs) la forma trivalente (iAs⁺³) es más tóxica que la pentavalente (iAs⁺⁵) y ambas más que sus compuestos metilados: el ácido monometilarsónico (MMA) y el ácido dimetilarsínico (DMA). Los arsenicales orgánicos arsenobetaina, arsenocolina y arsenoazúcares son considerados no tóxicos. Además de otros factores, tales como dosis, duración y frecuencia de exposición, especie biológica en estudio; edad, sexo, sensibilidad individual, genética y factores nutricionales.^(46,75)

Las intoxicaciones por compuestos arsenicales y su sintomatología se pueden dividir en:⁽⁴⁶⁾

- Efectos a corto plazo: la ingesta de grandes dosis de arsénico por lo general resulta en síntomas en un plazo de 30 a 60 minutos.

- Efectos crónicos: la ingesta de bajos niveles de arsénico a largo plazo afectando casi a todos los órganos y principales sistemas del cuerpo.
- Incidencia de cáncer: el arsénico fue reconocido como sustancia cancerígena en 1980 y registrado como tal en la Agencia Internacional para la investigación sobre el cáncer (IARC)⁽⁴⁶⁾

Dependiendo del tipo de compuesto, del tiempo e intensidad de la exposición, los principales efectos generales en la salud producidos por la exposición al arsénico se tienen:⁽⁴⁶⁾

- Efectos gastrointestinales: gastroenteritis hemorrágica, náuseas, vómitos, olor a ajo en el aliento, dolor abdominal y diarrea acuosa.
- Efectos renales: el arsénico ocasiona un grave daño en los capilares, túbulos y glomérulos renales. Llegando a ocasionar proteinuria, más tarde hay grados variables de necrosis y degeneración de tubulares. A menudo ocasiona oliguria, hematuria y presencia de cilindro en la orina.
- Efectos en la piel: a corto plazo poseen efectos vesicantes en la piel, que ocasiona necrosis y esfacelo. El consumo prolongado causa hiperqueratosis, hiperpigmentación en el tronco y extremidades. Todos estos factores culminan en atrofia y degeneración, y a veces en cáncer.
- Efectos cardiopulmonares: se observan miocardiopatía congestiva, trastornos de la conducción, prolongación del intervalo QT con taquicardia ventricular polimorfa, edema agudo de pulmón cardiogénico o no cardiogénico, hipotensión y muerte. La exposición a largo plazo ocasiona gangrena de las extremidades, en particular de los pies.

- Efectos neurológicos: puede producirse típicamente delirio, desorientación, agitación, encefalopatía, convulsiones, debilidad muscular, parálisis, insuficiencia respiratoria neuromuscular y coma.⁽⁴⁶⁾

El tratamiento de la intoxicación por arsénico se hace con agentes quelantes, los más usados son:⁽⁷⁵⁾

- BAL (dimercaprol) quien neutraliza al tóxico.
- DMSA (dimercaptosuccínico) quelante análogo al dimercaprol y con menor toxicidad.
- DMPS (dimercapto-1-propanosulfónico) quelante similar al DMSA y por tanto con menos efectos tóxicos.⁽⁷⁵⁾

3.9.3 Cadmio

3.9.3.1 Generalidades del Cadmio

El cadmio es un elemento de la tabla periódica con número atómico 48, masa atómica 112.40 g/mol, que no se encuentra en el medio ambiente como un metal puro, es un elemento relativamente raro en la litosfera y no se descompone fácilmente; por lo que puede tomar diferentes formas. Es más abundante en la naturaleza en forma de óxidos complejos, sulfuros y carbonatos en el zinc (por su afinidad química y en proporciones muy variables), plomo y menas de cobre. El cadmio suave y de color blanco plateado es relativamente barato, ya que se trata de un subproducto del procesamiento de metales más valiosos como el zinc y el cobre. Es considerado uno de los mayores agentes tóxicos asociado a contaminación ambiental e industrial por sus efectos adversos para el hombre, su bioacumulación, persistencia en el medio ambiente y facilidad de viajar grandes distancias con el viento y en los cursos de agua.⁽⁶⁸⁾

3.9.3.2 Fuentes de Exposición al Cadmio

Este elemento ingresa al medio ambiente a través de diversas fuentes naturales y antropogénicas. Las diversas aplicaciones del cadmio y sus incrementos en la producción mundial constituyen un gran riesgo considerable para la salud por el contacto frecuente laboral y ambiental. Cabe mencionar que a pesar de tener identificadas las fuentes de exposición al cadmio, actualmente se reconoce que la comida y los cigarrillos son las principales fuentes de exposición al cadmio en la población en general, también se le puede atribuir al agua; ya sea porque ha sido contaminada por cañerías que contienen cadmio en sus soldaduras o por desechos industriales.⁽⁶⁸⁾

Entre las fuentes de exposición tenemos:

- Fuentes naturales: el cadmio está naturalmente presente en diversas concentraciones en la roca de fosfato extraída para ser utilizada como fertilizante, es liberado por las emisiones volcánicas y por la quema de combustibles fósiles de biomasa.⁽⁶⁸⁾
- Fuentes antropogénicas: desechos producidos por fábricas que se dedican al acabado de metales, electrónicas, manufactura de pigmentos (pinturas y agentes colorantes), baterías, estabilizadores plásticos, plaguicidas (fungicidas), fertilizantes fosfatados y nitrogenados, industrias de plateado y galvanizado, industria de alimentos fosfatados para animales, la incineración de residuos de madera, carbón o plásticos y las aplicaciones industriales de cadmio.⁽⁶⁸⁾

3.9.3.3 Efectos Tóxicos del Cadmio en el ser humano

Como ya se mencionó, el cadmio proviene de diversas fuentes de exposición por los amplios usos y aplicaciones que este metal pesado posee. Por lo que se ha determinado que existen dos vías principales de ingreso; la inhalación e ingesta; ya sea por exposiciones laborales, por contacto ambiental o alimentos

contaminados. Las manifestaciones clínicas de la exposición al cadmio pueden clasificarse de acuerdo con el tiempo y modo de dicha exposición, en agudas y crónicas. Otro punto para resaltar es que las personas que tienen bajas reservas de hierro son especialmente vulnerables a los efectos adversos del cadmio, así como también se debe valorar el tipo de compuesto que ha ingresado al organismo.^(68,74)

Entre las manifestaciones clínicas específicas, el cadmio tiene efectos bien establecidos en los riñones, los huesos y los pulmones.⁽⁶⁸⁾ Se han agrupado hallazgos de laboratorio, principalmente, que permiten describir los siguientes efectos en la salud por la exposición al cadmio:⁽⁷⁴⁾

- Efectos renales: se ha encontrado que primero aparece disfunción glomerular y luego de un período de latencia se manifiesta la clásica micro proteinuria. El daño renal se caracteriza por:
 - Proteinuria de peso molecular bajo.
 - Aumento en la eliminación de la enzima lisosoma- β -galactosidasa.
 - Calciuria y formación de cálculos
 - Glucosuria, aminoaciduria, incrementos de los niveles de urea, creatinina.

- Efectos pulmonares: irritación de vías respiratorias, síndromes obstructivos restrictivos e inclusive fibrosis pulmonar. ⁽⁷⁴⁾

- Efecto óseo (itaí-itaí): se manifiesta principalmente en sujetos con metabolismo de hueso osteoporótico, mujeres multíparas, también en algunos casos de trastornos del metabolismo del calcio o ingesta baja de proteínas y de vitamina D. Generando así descalcificación, lo que puede terminar en osteomalacia, deformaciones óseas manifiestas, fracturas espontáneas, lumbalgia, parestesias y neuralgias en miembros inferiores,

- Efectos cardiovasculares: se ha descrito hipertensión arterial, además de daño en la pared de las arterias. Sin embargo, se siguen desarrollando estudios epidemiológicos para establecer de forma concluyente la causalidad entre exposición y efectos cardiovasculares.⁽⁶⁸⁾

No hay un tratamiento específico para la intoxicación por cadmio, por lo que se recomienda aplicarse un tratamiento sintomático. Como norma, la administración de agentes quelantes como el BAL o el EDTA está contraindicado, pues al combinarse con cadmio, se convierten en compuestos nefrotóxicos.⁽⁵⁴⁾

3.9.4 Níquel

3.9.4.1 Generalidades del Níquel

El níquel es un metal de transición con cinco estados de oxidación que puede formar una gran variedad de especies distintas, siendo el estado de oxidación +2 el más abundante.⁽⁵²⁾ El níquel puro es un metal duro, blanco-plateado que tiene propiedades que lo hacen muy deseable para combinarse con otros metales y formar mezclas llamadas aleaciones. Algunos de los metales con los cuales se combina el níquel son el hierro, cobre, cromo, zinc, cloro, azufre y oxígeno para formar compuestos de níquel. El níquel y sus compuestos no tienen ni olor ni sabor característico.⁽²⁾

3.9.4.2 Fuentes de Exposición al Níquel

El níquel ocurre en forma natural en la corteza terrestre combinado con otros elementos. Se encuentra en todos los suelos y cabe recalcar que generalmente se encuentra en niveles muy bajos en el ambiente. Es un elemento con un amplio uso a nivel industrial por lo que la mayor parte de los compuestos niquelados a los que el ser humano puede verse expuesto son generados principalmente por la actividad del ser humanos. Estudios han determinado que

los alimentos son la principal fuente de exposición, así como también al respirar aire o tomar agua contaminada y fumar tabaco.⁽²⁾

El níquel es liberado al medio ambiente a partir de una gran variedad de fuentes naturales y antropogénicas, entre las cuales podemos mencionar:⁽²⁾

- Fuentes Naturales: en el ambiente se encuentra principalmente combinado con oxígeno o azufre en forma de óxidos o sulfuros. El níquel también se encuentra en meteoritos, en el fondo del océano formando masas de minerales llamadas nódulos del fondo del mar y también es liberado por volcanes.⁽²⁾
- Fuentes Antropogénicas: dentro de los procesos industriales, una cantidad considerable deriva de la combustión del carbón, petróleo, y otros combustibles fósiles. También contribuyen la fabricación de aleaciones de níquel (acero, joyas, partes artificiales del cuerpo que contienen níquel), la metalúrgica y minería, los procesos de galvanoplastia, la incineración de residuos y las aguas residuales. Se han encontrado residuos procedentes de la agricultura (plaguicidas y fertilizantes), el uso de tintes o la propia urbanización de terrenos que genera aguas residuales muy contaminadas.⁽⁵²⁾

3.9.4.3 Efectos Tóxicos del Níquel en el ser humano

Los efectos tóxicos del níquel en el organismo dependen de múltiples factores, los estudios farmacocinéticos en humanos indican que el níquel se absorbe en los pulmones, tracto digestivo y la piel. La absorción pulmonar es la principal vía en referencia a la toxicidad inducida por níquel. El grado de dicha absorción, vendrá determinado por la forma química y su lugar de acumulación (dependiendo del tamaño, forma, densidad, carga eléctrica de las partículas de este metal).⁽⁵²⁾

Dentro de los efectos generales en la salud producidos por la exposición al plomo se tienen:⁽⁵²⁾

- Efectos sobre la piel: el níquel y los compuestos de níquel se encuentran entre las causas más frecuentes de dermatitis alérgicas por contacto. Se observa por lo general en la población que ha sido expuesta al níquel ya sea por razones laborales o por el simple contacto a materiales que contienen níquel. La sensibilización a este metal puede generar un eritema papular en las manos, enrojecimiento, y en casos más extremos pústulas y úlceras.
- Efectos respiratorios: la inhalación de polvo de níquel o aerosoles de compuestos solubles de níquel pueden desarrollar enfermedades crónicas de las vías respiratorias altas, como rinitis hipertrófica, sinusitis nasal, anosmia, poliposis nasal y perforación del tabique nasal; y en las vías respiratorias bajas se presenta bronquitis o fibrosis pulmonar, pero con una frecuencia muy baja.
- Efectos cancerígenos: el níquel ha sido clasificado dentro del nivel más peligroso de los cancerígenos del grupo 1. Estudios ponen en manifiesto un alto riesgo de padecer cáncer de pulmón o de las cavidades nasales. Así como también tumores malignos, como carcinomas de la laringe, riñón, próstata o estómago y sarcoma de tejidos blandos.
- Efectos renales: alteraciones en la función de los túbulos renales, que se manifiestan por un aumento en la excreción renal de β_2 -microglobulina (β_2 -M) y N-acetil-glucosaminidasa (NAG).⁽⁵⁴⁾

En el caso de ingesta de níquel, resulta eficaz el tratamiento conservador con líquidos intravenosos para inducir diuresis. El mejor tratamiento para la

dermatitis por el níquel es evitar la exposición y prestar especial atención a las prácticas higiénicas.⁽⁵⁴⁾

3.9.5 Plomo

3.9.5.1 Generalidades del Plomo

El plomo con símbolo Pb, es un elemento que químicamente se considera un metal pesado y se ubica en la tabla periódica en el período 6 y grupo IV A, con el número atómico 82, de peso atómico 207.2 g/mol, con un punto de ebullición de 1725°C, punto de fusión de 327.4 °C y su densidad de 11.4 g/mL. Se funde con facilidad a elevadas temperaturas, se encuentra de forma natural en estado sólido y no es biodegradable.⁽⁸⁰⁾

Sus características físicas podemos citar que es de color gris plateado, no tiene capacidad elástica, tiene una excelente maleabilidad, muy resistente a la corrosión, forma con facilidad aleaciones, dúctil, baja conductividad, bajo de punto fusión que han favorecido su uso desde épocas antiguas, en múltiples aplicaciones de las actividades del hombre.⁽⁸⁰⁾

3.9.5.2 Fuentes de Exposición al Plomo

El plomo se encuentra en niveles bajos en la corteza terrestre, principalmente como sulfuro de plomo. Cabe recalcar que la contaminación puede provenir de actividades naturales, como la actividad volcánica, la meteorización geoquímica, las emisiones de aerosol marino, movilización de fuentes históricas como el plomo en el suelo, los sedimentos y el agua de las zonas minerales; así como también en gran medida resulta de la actividad humana, como la minería, la refinación y el reciclaje informal del plomo, producción de baterías y pinturas, fabricación de joyas, soldadura, cerámica, entre otras.⁽⁵⁶⁾

Entre las principales fuentes destacan:⁽⁵⁶⁾

- Procesos industriales: baterías plomo-ácidos, materiales de plomería. cables de revestimiento, pinturas, esmaltes y municiones, gasolina y sus aditivos, exposición ocupacional.
- Tabaquismo/alimentación: fumadores activos, alimentos contaminados con polvo, hortalizas en suelos contaminados (como minas o fundiciones).
- Agua potable: sistemas de plomería que contienen tuberías de plomo, soldaduras, accesorios o agua que ha estado en contacto con el plomo durante un período prolongado.
- Fuentes domésticas: juguetes, medicinas tradicionales, cosméticos, pintura de las paredes de casas antiguas y polvo.⁽⁵⁶⁾

3.9.5.3 Efectos Tóxicos del Plomo en el ser humano

La exposición al plomo puede afectar adversamente a los sistemas nervioso, inmunológico, reproductivo y cardiovascular. La absorción depende del tránsito gastrointestinal, estado nutricional y edad; se produce principalmente la ingesta por medio de los sistemas respiratorio y gastrointestinal; es mayor si hay deficiencia de hierro o calcio, en dietas ricas en grasa y durante la infancia.⁽⁵⁾

Dentro de los efectos generales en la salud producidos por la exposición al plomo se tienen:⁽⁸⁰⁾

- Efecto hematológico: la influencia del plomo en la aparición de la anemia se debe al inhibir la enzima delta-deshidratasa del ácido D-aminolevulínico (ALAD) y la actividad de ferroquelatasa. Lo que trae como consecuencia el aumento de las protoporfirinas en los hematíes, resultando al final la anemia e incremento de punteado basófilo al reducir la producción de hemoglobina, y disminuye la vida media de los eritrocitos, ocurre tanto en niños como en adultos.

- Efectos neurológicos: la exposición al plomo trae consigo afecciones del sistema nervioso central periférico, acumulándose en el espacio endoneural de los nervios periféricos causando edema, aumento de la presión y finalmente daño axonal. La exposición crónica del plomo ocasiona fatiga, disturbios al dormir, dolor de cabeza, convulsiones, debilidad muscular, ataxia, mareos y parálisis, así mismo, daños en la habilidad visual, el tacto fino, cuadros de ansiedad, daños en la habilidad cognitiva y niveles intelectuales tanto en adultos como en niños. (80)
- Efecto renal: en el riñón interfiere con la conversión de la vitamina D a su forma activa. La nefropatía se caracteriza por la cito megalia en las células del epitelio del túbulo proximal y se manifiesta como amino aciduria, hipofosfatemia y glucosuria. Cambios morfológicos como la formación de cuerpos de inclusión nuclear, cambios mitocondriales y disfunción de los túbulos proximales. Así mismo, nefritis intersticial ha sido reportada en concentraciones de plomo mayores a 40 µg/dL. (80)
- Efecto reproductivo: la exposición crónica al plomo causa efectos adversos en el sistema reproductivo femenino y masculino. La exposición ocupacional del plomo en mujeres antes o durante el embarazo está asociada con abortos espontáneos, muerte fetal, nacimientos prematuros, recién nacidos de bajo peso, entre otras anomalías en el recién nacido. (80)

Durante una intoxicación con plomo al inicio se recomienda detectar la fuente de exposición para evitar que continúen progresando las complicaciones. Es de elección el tratamiento quelante con edetato disódico cálcico, aunque su administración se ha relacionado con la redistribución del plomo hacia el tejido blando y cerebro, por lo que en estos casos se debe asociar con dimercaprol. Otro tratamiento alternativo es con ácido dimercaptosuccínico que no redistribuye el plomo al cerebro y tiene pocos efectos adversos. (5)

3.10 Método Para Determinar Metales Pesados

3.10.1 Espectroscopia de Absorción Atómica (EAA)

La espectroscopia de absorción atómica (a menudo llamada ASS) es un método instrumental de la química analítica que determina una gran variedad de elementos como analitos en estado fundamental.⁽⁴¹⁾

La espectrometría atómica es un método instrumental que se basa en la absorción, emisión y fluorescencia de radiación electromagnética por partículas atómicas. Se emplean principalmente radiaciones del espectro ultravioleta (UV) y visible y Rayos X.⁽⁴¹⁾

La espectrometría de absorción atómica utiliza la absorción de la luz de las longitudes de onda intrínsecas por los átomos. Todos los átomos se clasifican en aquellos que tienen energías bajas y aquellos que tienen energías altas. El estado que tiene bajas energías se llama estado fundamental y el estado que tiene altas energías se llama estado excitado.⁽⁷⁴⁾

El átomo en estado fundamental absorbe energías externas y pasa al estado excitado. La diferencia entre las energías en el estado fundamental y en el estado excitado está fijada por el elemento y la longitud de onda de la luz a absorber. La espectrometría atómica utiliza la lámpara de cátodo hueco (HCL), la cual emite luz característica de la longitud de onda elemental que se mide.⁽⁸⁴⁾

3.10.2 Usos y aplicaciones de la Espectrometría de Absorción Atómica

La espectrometría de absorción atómica consiste en la medición de las especies atómicas por su absorción a una longitud de onda particular. Es una técnica capaz de detectar y determinar cuantitativamente la mayoría de los elementos químicos, por lo que sus campos de aplicación son variados, Este método se puede aplicar para la determinación de ciertos metales tales como: antimonio, cadmio, calcio, cesio, cromo, cobalto, oro, plomo, níquel, entre otros.

Se emplea en análisis de agua, de suelos, bioquímica, toxicología, medicina, industria farmacéutica, alimenticia, petroquímica, etc.⁽⁴¹⁾

El instrumento empleado en estos análisis es un espectrómetro de absorción atómica. Este equipo generalmente está compuesto por una lámpara del tipo cátodo hueco, un quemador o mechero, compuesto a su vez por un nebulizador de la muestra, y dispositivos de selección de longitudes de onda (monocromador), transducción y amplificación (tubo fotomultiplicador) y lectura de la señal.⁽⁴¹⁾ (Ver Figura N°6)

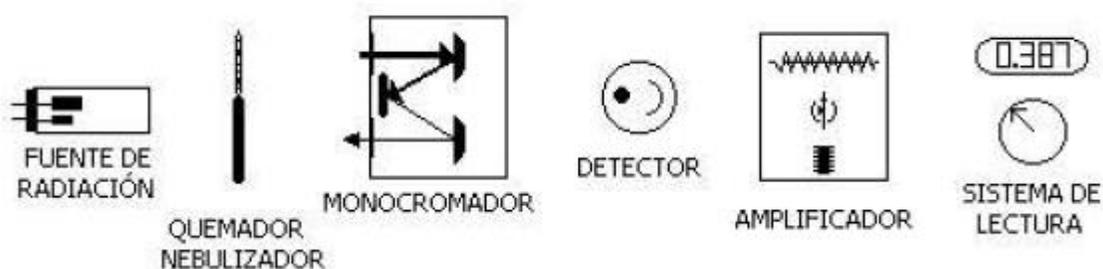


Figura N° 6. Representación de los componentes instrumentales de un espectrofotómetro de absorción atómica.⁽⁴¹⁾

3.10.3 Técnicas de Análisis Aplicadas en esta Investigación

El principio mencionado anteriormente se puede aplicar a la absorción de luz de “átomos libres”. Un “átomo libre” significa un átomo no combinado con otros átomos. Sin embargo, los elementos de la muestra a analizar no están en estado libre, y se combinan invariablemente con otros elementos para formar una llamada molécula.⁽⁸⁴⁾

Por lo que esta combinación debe cortarse de alguna manera para liberar los átomos. Esto se llama atomización. El método más popular de atomización es la disociación por calor: las muestras se calientan a una temperatura alta para que las moléculas se conviertan en átomos libres. Este método se clasifica en el método de llama, en el que utilizan una llama como fuente de calor; un método

sin llama, en el que utilizan un horno eléctrico muy pequeño; y los métodos que tiene una sensibilidad más alta que las mencionadas anteriormente, que se usan a menudo para elementos especiales como arsénico, selenio y mercurio. Los cuales utilizan reacciones químicas en el proceso de atomización para vaporizar en formas de átomo o molécula simple.⁽⁸⁴⁾

3.10.3.1 Espectrofotometría de Absorción Atómica de Llama

Esta técnica a través de un atomizador de llama nebuliza una solución de la muestra mediante un flujo de oxidante gaseoso (oxígeno, óxido nitroso o argón) mezclado con un combustible también gaseoso (gas natural, acetileno) y se lleva hacia una llama donde ocurre la atomización. En la llama ocurre un conjunto complejo de procesos interconectados. El primero es la desolvatación, en la que el disolvente se evapora para producir un aerosol molecular finamente dividido. Luego, este se volatiliza para formar moléculas de gas. La disociación de la mayor parte de dichas moléculas produce un gas atómico. Algunos de los átomos del gas se ionizan para formar cationes y electrones; y una fracción de las moléculas, átomos y iones se excita también por el calor de la llama⁽⁸⁵⁾ (Ver Figura N°7); estos átomos absorben cualitativamente la radiación emitida por la lámpara de cátodo hueco y la cantidad de radiación es absorbida en función de su concentración.⁽³⁵⁾

La señal de la lámpara una vez que pasa por la llama llega a un monocromador, que tiene como finalidad el discriminar todas las señales que acompañan la línea de interés. Esta señal de radiación electromagnética llega a un detector o transductor, luego pasa a un amplificador y por último a un sistema de lectura produciendo espectros de emisión atómicos, iónicos y/o moleculares.⁽³⁵⁾

Se han probado muchas combinaciones de varios gases como la llama para atomización. En consideración de la sensibilidad de análisis, seguridad, uso fácil, costo y otros; se utilizan cuatro llamas estándar: aire-acetileno, óxido

nitroso-acetileno, aire-hidrógeno y argón-hidrógeno. Estas llamas se utilizan para cada elemento según la temperatura y las características del gas.⁽⁸⁴⁾

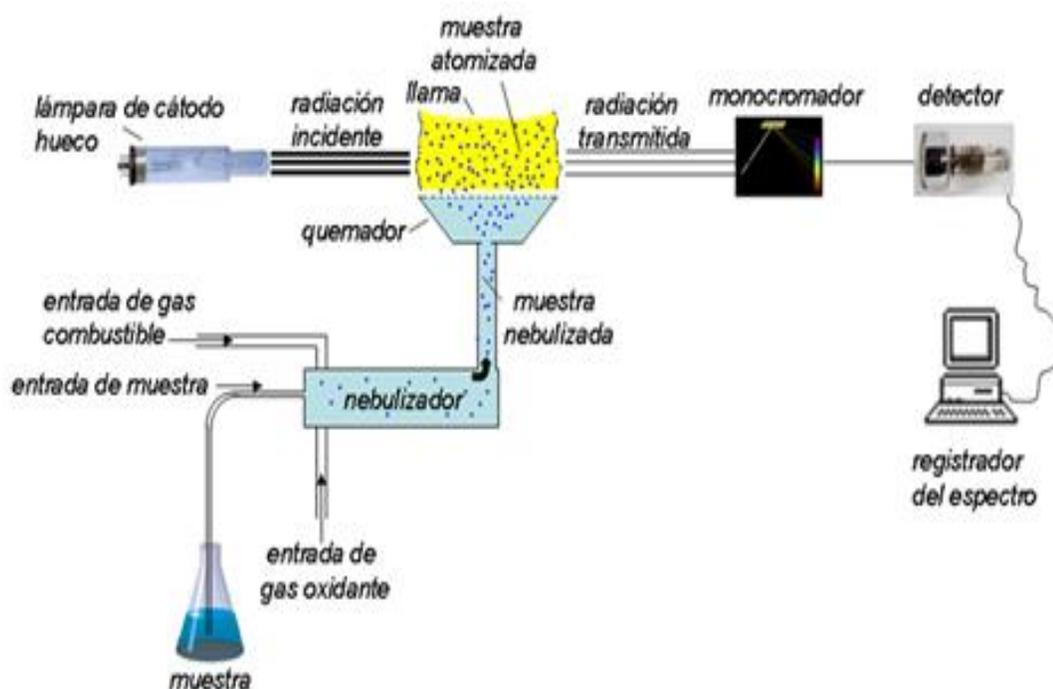


Figura N° 7. Esquema del proceso de espectrofotometría de absorción atómica por llama.⁽³⁹⁾

3.10.3.2 Espectrofotometría de Absorción Atómica por Generador de Hidruros

Esta técnica forma parte de los otros métodos de atomización que se usan de forma ocasional para el análisis de absorción atómica. La atomización de los hidruros requiere sólo que se les caliente en un tubo de cuarzo.⁽⁷⁵⁾

Las técnicas de generación de hidruros representan un método para introducir como un gas la muestra que contienen arsénico, antimonio, estaño, selenio, bismuto y plomo en un atomizador.⁽⁷⁵⁾ Los hidruros volátiles se generan haciendo que la muestra reacciona con borohidruro de sodio. Se acidifica con HCl para reducir el metal objeto y se combina con el hidrógeno para producir un hidruro de metal gaseoso. Este gas se envía a la unidad de atomización de alta temperatura para medición.⁽⁸⁴⁾

La bomba peristáltica envía la muestra, ácido clorhídrico y la solución de borohidruro de sodio a la bobina de reacción. El hidruro metálico se genera en la bobina de reacción y el separador gas-líquido se usa para separar la fase líquida y la fase gaseosa, esta última se barre hacia la cámara de atomización mediante un gas inerte como el argón.⁽⁸⁴⁾ La cámara es por lo regular un tubo de sílice calentado a varios cientos de grados en un horno de tubo o en una flama donde tiene lugar la descomposición del hidruro, lo que da lugar a la formación de átomos del analito. (Ver Figura N°8) La concentración del analito se mide entonces por absorción o emisión. La señal tiene una forma de pico similar al que se obtiene con la atomización electrotrémica.⁽⁸⁵⁾

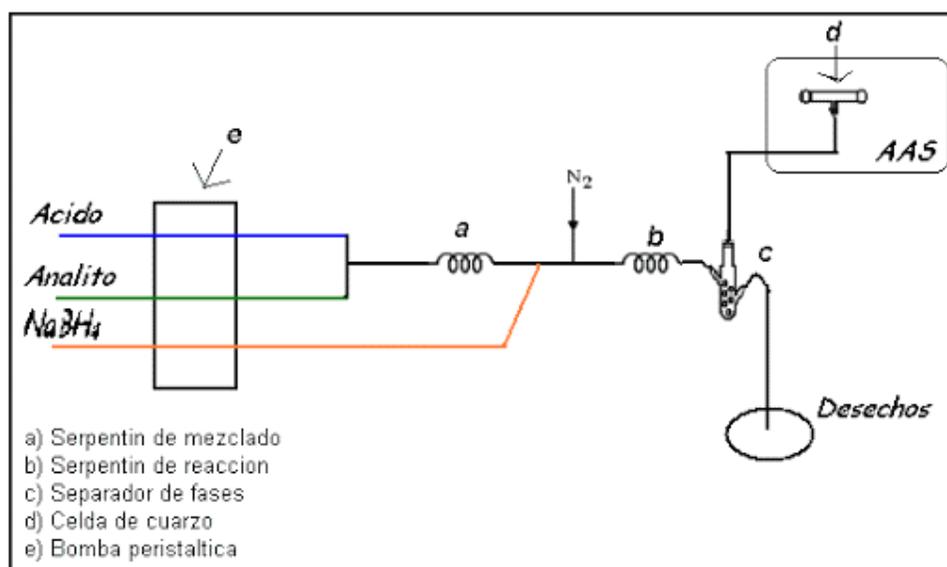


Figura N° 8. Esquema del proceso de espectrofotometría de absorción atómica por generador de hidruros.⁽³³⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLÓGICO

4.0 DISEÑO METODOLÓGICO

4.1 Tipo de estudio

4.1.1 Estudio bibliográfico

Se realizó una investigación del material bibliográfico existente con respecto al tema de interés. Utilizando diferentes fuentes de información como el sistema bibliotecario de la Universidad de El Salvador y diversas bases de datos en internet que cuentan con artículos científicos o investigaciones relacionadas al tema.

4.1.2 Estudio experimental de laboratorio

El análisis fitoquímico preliminar del material vegetal y las infusiones de “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) se llevó a cabo en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia; y la determinación de metales pesados en el Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambos de la Universidad de El Salvador.

4.1.3 Estudio prospectivo

Con los resultados de la investigación se elaboró un bosquejo de artículo científico, de esta forma este trabajo y el artículo podrán ser utilizados como antecedente para futuras investigaciones.

4.1.4 Estudio exploratorio

En el país no se cuenta con una investigación sobre la cuantificación de metales pesados en infusiones de “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze). Por lo que la investigación se plantea como base inicial para detectar si existe contaminación por metales pesados en

este tipo de matrices y que futuras investigaciones o proyectos con financiamiento económico permitan la adquisición de muestras en mayor volumen y realización de análisis que brinden resultados con mayor representatividad. Tomando en cuenta el planteo de un análisis muestral más extenso, que involucre otras marcas y centros de distribución de estos productos en nuestro país.

4.2 Investigación bibliográfica

La información bibliográfica se recolectó de revistas científicas, bases de datos digitales, artículos científicos, reglamentos técnicos, y en las siguientes bibliotecas:

- Universidad de El Salvador.
- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia
- Facultad de Ciencias Agronómicas.
- Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas.

4.3 Investigación de campo

Se llevó a cabo un sondeo a través de una encuesta en línea la cual se realizó a través de un formulario de Google en octubre del 2020.(Ver Anexo N°1) Se recolectó la información sobre la preferencia de tres marcas de infusiones de “Manzanilla” y “Té Verde” por los estudiantes de la cátedra de Farmacognosia con un total de 58 encuestados (Cuarto año), Tecnología Farmacéutica con un total de 46 encuestados (Quinto año) y 2 encuestados que no brindaron dicha información. Todos estudiantes de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador ubicada en Ciudad Universitaria, Final Avenida “Mártires Estudiantes del 30 de Julio”, Ciudad Universitaria, San Salvador, América Central.

4.3.1 Procedimiento para la aplicación de la encuesta

Para la realización de la encuesta por medio del formulario de Google, primero se procedió a compartir el enlace, con un catedrático de Farmacognosia (4to año) y un catedrático de Tecnología Farmacéutica (5to Año) de la Facultad de Química y Farmacia, el cual al finalizar la clase compartió el enlace del formulario con los estudiantes y de esta manera se recolectó la información sobre las tres marcas de infusiones de “Manzanilla” y “Té Verde” más consumidas y/o de mayor preferencia. Se seleccionó a este sector estudiantil, ya que se considera que a ese nivel de la carrera ya se tienen los conocimientos base sobre las propiedades medicinales y la importancia de la calidad e inocuidad de las plantas para la salud del ser humano.

4.3.2. Universo

Todas las marcas de infusiones de “Manzanilla” y “Té Verde” comercializadas en El Salvador.

4.3.3 Muestras

Se analizaron tres diferentes marcas de infusiones de “Manzanilla” y “Té verde” seleccionadas mediante los resultados obtenidos de la encuesta dirigida a los estudiantes de las cátedras de Farmacognosia y Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química y Farmacia, de la Universidad de El Salvador. Dichas muestras se recolectaron en el supermercado “Super Selectos” del Centro Comercial San Luis, San Salvador, El Salvador.(Ver Anexo N° 2)

Para el análisis fitoquímico preliminar: por cada planta se seleccionaron tres marcas, según los resultados de preferencia obtenidos en la encuesta. Por cada marca se tomó como muestra una caja y el análisis se realizó tanto a la infusión preparada, como también al material vegetal, por lo que se analizaron dos matrices. De cada caja, las cuales contienen entre 20 a 25 bolsas filtrantes de infusiones, se reservaron 3 bolsas filtrantes para la determinación del Análisis

Fitoquímico en infusión; y con el resto de ellas se realizó una mezcla del contenido “bulk” para tener así una muestra representativa en la determinación del Análisis Fitoquímico en material vegetal. Siendo un total de 6 muestras de “Manzanilla” y 6 muestras de “Té Verde” (Ver Anexo N°3), a las cuales se les realizó cada una de las pruebas mencionadas en el Cuadro N°3. Pruebas de identificación de metabolitos secundarios.

Para el análisis de metales pesados: se analizaron las mismas tres marcas que se utilizaron en el análisis fitoquímico preliminar. Por cada marca se tomaron como muestra 3 cajas haciendo un total de 9 cajas por cada planta. El análisis para cada planta se realizó tanto a la infusión preparada (9 muestras) como también al material vegetal (9 muestras), haciendo un total de 18 muestras. A cada muestra se le cuantificaron 4 metales pesados (As, Cd, Ni, Pb) haciendo un total de 72 determinaciones por cada planta. Este criterio se aplicó para la selección y determinación de metales pesados en infusiones y material vegetal de cada planta por analizar. (Ver Anexo N° 4 y N° 5)

4.4 Parte Experimental

4.4.1 Análisis fitoquímico preliminar - Preparación de los extractos

Material Vegetal: para preparar los extractos de cada material vegetal se realizó mediante maceración asistida por ultrasonido, ya que facilita el proceso de extracción de los metabolitos secundarios y es un método que no utiliza calor, por lo tanto, no daña los metabolitos termolábiles. Para este método se empleó etanol 95° como el solvente extractor ya que por su estructura molecular permite la disolución de compuestos hidrofóbicos, hidrofílicos y apolares. (35)

a. Metodología de extracción asistida por ultrasonido.

- Pesar 10 g de cada material vegetal, previamente fraccionado y seco.
- Agregar el material vegetal previamente pesado, en un Erlenmeyer de 125 mL.
- Adicionar etanol 95° hasta cubrir el material vegetal.
- Colocar el Erlenmeyer en un baño ultrasonido por 1 hora, y repetir la operación nuevamente.
- Filtrar con papel Whatman N°40 y recibir en un Erlenmeyer de 125 mL.
- Realizar el análisis fitoquímico preliminar al extracto. ⁽³⁵⁾ (Ver Anexo N° 6 y N° 7)

Infusiones del Material Vegetal: para preparar las infusiones de cada material vegetal se utilizó el método de extracción por infusión, ya que este método se asemeja a la forma cotidiana de cómo son preparadas habitualmente estas bebidas por parte de la población. Se trabajó directamente con los extractos acuosos para el análisis fitoquímico preliminar.

b. Metodología de extracción por el método de infusión.

- Colocar una bolsa de infusión del material vegetal a analizar en un beaker de 250 mL.
- Humedecer con 10.0 mL de agua destilada a temperatura ambiente.
- Añadir 90.0 mL de agua destilada en ebullición.
- Cubrir con un vidrio de reloj el beaker de 250 mL.
- Dejar reposar por 10 minutos
- Retirar la bolsa de infusión y filtrar de ser necesario.
- Rotular y almacenar la muestra.
- Realizar el análisis fitoquímico preliminar al extracto. ⁽⁴⁵⁾ (Ver Anexo N° 8 y N° 9)

4.4.2 Análisis Fitoquímico Preliminar en Material Vegetal e Infusiones – Identificación de metabolitos secundarios.

4.4.2.1 Identificación de glicósidos saponínicos

a. Método de la espuma

- Pesar 0.5 g de material vegetal seco y pulverizado, y colocarlo en un tubo de ensayo.
- Agregar 4 mL de agua destilada.
- Agitar vigorosamente durante 30 segundos y dejar reposar.
- Medir con una regla la altura formada por la espuma a los 1, 5, 10, 15 y 30 minutos.

Evidencia positiva: formación de abundante espuma que tiene forma hexagonal y una altura mínima de 1.0 cm por arriba de la superficie del líquido perdurando por al menos 15 minutos. (22,35,45)

b. Prueba de Komarowski-cromatografía de capa fina

Fase móvil: a. n-hexano-acetato de etilo (1:1)

b. acetato de etilo–metanol–agua (8:1:1)

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Reactivo revelador: Komarowski.

Testigos: β -amirina y colesterol

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaca.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.

- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador Komarowsky.
- Calentar la placa a 110°C durante 5 minutos.

Evidencia positiva: manchas de color azul, amarillo, rojo y rosadas al UV visible. (22,35,45)

4.4.2.2 Identificación de glicósidos cardiotónicos

a. cromatografía de capa fina.

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (8:1:1).

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Reactivo revelador: Kedde A y Kedde B.

Testigos: *k*-estrofantina.

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador Kedde A y Kedde B.

Evidencia positiva: manchas de color púrpura o violáceo al UV visible. (22,35,45)

4.4.2.3 Identificación de flavonoides

a. Cromatografía de capa fina

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (8:1.5:0.5)

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Reactivo revelador: Tricloruro de aluminio al 1% en etanol.

Testigo: Quercetina.

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador tricloruro de aluminio al 1% en etanol.
- Observar las manchas eluidas en la lámpara de luz UV a 365 nm.

Evidencia positiva: fluorescencia amarilla a la luz UV-365 nm. (22,35,45)

4.4.2.4 Identificación de antraquinonas

a. Cromatografía capa fina

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (7:2.5:0.5).

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Revelador: Hidróxido de potasio al 5% (m/v) en metanol.

Testigo: Extracto de “Cola de zorro” *Alvaradoa amorphoides*.

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.

- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador hidróxido de potasio al 5% en etanol.

Evidencia: manchas de color rosado, rojo o violeta al UV visible. (22,35,45)

4.4.2.5 Identificación de taninos

a. Cromatografía capa fina

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (7:2.5:0.5).

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Revelador: Tricloruro de hierro 1% en metanol.

Testigo: Ácido tánico.

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaca.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador tricloruro de hierro.

Evidencia positiva: manchas azules, grises y verdes al UV visible. (45)

4.4.2.6 Identificación de alcaloides

a. Cromatografía capa fina

Fase móvil: acetona-acetato de etilo-metanol (9:0.6:0.4).

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Revelador: Dragendorff

Testigo: Sulfato de hiosciamina

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador Dragendorff.

Evidencia positiva: manchas de color naranja al UV visible. (22,45)

4.4.2.7 Identificación de sesquiterpenlactonas

a. Detección de lactona insaturada-cromatografía capa fina

Fase móvil: n-hexano-acetato de etilo (7:3).

Acetato de etilo-metanol-agua (8:1:1)

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Revelador: Reactivo de Baljet.

Testigos: Extracto diclorometano de *Calea urticifolia*.

- Aplicar 5-10 μL de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador Reactivo de Baljet.

Evidencia positiva: manchas de color naranja al UV visible. (22,35,45)

4.4.2.8 Identificación de cumarinas

a. Cromatografía capa fina

Fase móvil: acetato de etilo-metanol-agua (8:1:1)

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Reactivo revelador: Hidróxido de potasio 5% en metanol.

Testigo: 6,7-dihidroxi-4-metilcumarina.

- Aplicar 5-10 μL de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con el revelador hidróxido de potasio al 5% en etanol. (Ver Anexo N° 10)

- Observar las manchas eluidas en la lámpara de luz UV a 365 nm.

Evidencia positiva: manchas de color azul fluorescente a la luz UV-365 nm.^(22,45)

4.4.2.9 Identificación de terpenoides

a. Cromatografía capa fina

Fase móvil: n-hexano-acetato de etilo (1:1).

Acetato de etilo-metanol-agua (8:1:1)

Fase estacionaria: Polygram Sil G/UV254.

Reactivo revelador: Vainillina en ácido sulfúrico.

Testigo: β -sitosterol.

- Aplicar 5-10 μ L de cada extracto de las muestras identificadas en la cromatoplaça.
- Introducir la placa inyectada dentro de la cámara cromatográfica saturada, con la fase móvil.
- Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara.
- Marcar el frente del solvente.
- Secar la placa a temperatura ambiente.
- Rociar la placa con ácido sulfúrico y luego Vainillina.
- Calentar la placa a 110°C durante 2 minutos.

Evidencia positiva: manchas de color azul, violeta, rojo, gris o verde al UV visible.^(22,45)

4.4.3 Determinación de As, Cd, Ni, Pb por espectrofotometría de absorción atómica

El método que se describe a continuación se aplicó en la preparación de las muestras del material vegetal.

4.4.3.1 Pretratamiento de la muestra – material vegetal

Para realizar el proceso de digestión por vía seca (determinación de cenizas), se extrajo el material vegetal de las bolsas filtrantes y se secaron en estufa de vacío a 105°C por 5 horas (Humedad Total), para garantizar que el material vegetal este completamente seco. Luego de este pretratamiento la muestra se encuentra en aptas condiciones para la realización de las determinaciones y análisis posteriores. ⁽²⁴⁾ (Ver Anexo N° 11)

4.4.3.2 Determinación del Porcentaje de Humedad Total (%HT)

Procedimiento

- Calentar a 105°C en una estufa de vacío una caja de aluminio durante un período de 2 horas. Enfriar en un desecador durante 30 minutos y pesar en una balanza analítica (anotar el peso).
- En la caja de aluminio tarada pesar 15.0 g de muestra previamente homogenizada y anotar el peso.
- Colocar destapada la caja de aluminio con la muestra en la estufa de vacío (previamente calentada a 105°C) durante 5 horas. Ajustar la presión de vacío a 100 mg de Hg.
- Retirar la caja de la estufa, tapar y poner en desecador para que enfríe durante 30 minutos.
- Pesar y anotar los pesos. Determinar el porcentaje de humedad total mediante la ecuación 2.⁽²⁴⁾ (Ver Anexo N°12)

Ecuación N°2.

$$\%Humedad\ total = \frac{P\acute{e}rdida\ de\ peso\ (g)}{Peso\ de\ muestra\ (g)} \times 100$$

Dónde:

Pérdida de peso = (peso de caja con muestra antes de secar) - (peso de caja con muestra después de secar)

Peso de muestra = (peso de caja con muestra) - (peso de caja vacía)

4.4.3.3 Determinación del Porcentaje de Cenizas (%Cz)

Procedimiento

- Colocar el crisol de porcelana limpio y correctamente identificado en la mufla, calentar a 500°C por 2 horas.
- Sacar el crisol de la mufla, colocarlo en un desecador y enfriar durante 30 minutos.
- Pesar el crisol vacío y anotar el peso.
- Pesar en balanza analítica aproximadamente 10.0 g de muestra seca directamente en el crisol de porcelana.
- Introducir el crisol con la muestra en el horno de mufla e incinerar aumentando gradualmente la temperatura, hasta alcanzar los 500°C y mantenerla constante durante 2 horas, hasta que esté blanco, esto indica la ausencia de carbono; controlar el tiempo y la temperatura.
- Retirar el crisol del horno de mufla, colocar en el desecador durante 30 minutos y pesar (anotar este peso).
- Guardar la muestra de ceniza para la solubilización y determinación de minerales.^(24,3) (Ver Anexo N°13)
- NOTA: Realizar simultáneamente un blanco de la misma manera.

Ecuación N°3.

$$\%Ceniza = \frac{\text{peso de ceniza}}{\text{peso de muestra}} \times 100$$

Dónde:

Peso de muestra = (peso del crisol más muestra) - (peso del crisol vacío)

Peso de ceniza = (peso de crisol + muestra incinerada) - (peso de crisol vacío)

4.4.3.4 Preparación de Solución de Cenizas para Determinación de Metales Pesados

Procedimiento

- Humedecer la ceniza con agua bidestilada, mediante el uso de una piseta
- Agregar al crisol que contiene las cenizas 5.0 mL de HCl concentrado medidos con probeta.
- Añadir con probeta 20.0 mL de agua bidestilada.
- Colocar el crisol en hot-plate a una temperatura aproximada de 100°C y evaporar el líquido hasta aproximadamente la mitad. (Realizar este procedimiento en cámara de extracción de gases)
- Transcurrido el tiempo, retirar del hot-plate y enfriar la solución a temperatura ambiente.
- Filtrar por gravedad, utilizando papel Whatman N° 42 y recibir el filtrado en un balón volumétrico de 100.0 mL, limpio y seco.
- Realizar lavado en el crisol con pequeñas porciones de agua bidestilada (2 a 3 lavados) hasta que esté libre de residuos.
- Aforar a 100.0 mL con agua bidestilada. rotular y conservar la solución para la determinación de metales pesados.⁽²⁴⁾ (Ver Anexo N°13)
- NOTA: Realizar simultáneamente un blanco de la misma manera.

El método que se describe a continuación se aplicó en la preparación de las muestras de infusiones.

4.4.3.5 Pretratamiento de la muestra - infusiones

Para el proceso de digestión húmeda se debe realizar la preparación de las infusiones por el método de extracción de infusión.⁽⁴⁵⁾

- Colocar una bolsa de infusión del material vegetal a analizar en un beaker de 250 mL.
- Humedecer con 10.0 mL de agua destilada fría.
- Añadir 90.0 mL de agua destilada en ebullición.
- Cubrir con un vidrio de reloj el beaker de 250 mL.
- Dejar reposar por 10 minutos
- Rotular y almacenar la muestra.⁽⁴⁵⁾ (Ver Anexo N°9)

4.4.3.6 Digestión de muestra líquida para determinación de metales pesados

- Tomar 100.0 mL de la muestra, medidos volumétricamente y transferirlos a un beaker de 250 mL.
- Agregar HCl concentrado (al 5% con respecto al volumen de la muestra)
- Agregar 10.0 mL de HNO₃ concentrado, grado analítico.
- Llevar a ebullición durante 10 minutos, manteniendo el cuidado de no tener pérdidas por salpicaduras.
- Filtrar la solución, utilizando papel filtro Whatman N°42, y recibir en balón volumétrico de 100.0 mL
- Realizar 2 a 3 lavados en el beaker con agua bidestilada, para arrastrar los residuos del contenido.
- Aforar el balón volumétrico con agua bidestilada, rotular y conservar la solución para la determinación de metales. ⁽⁶²⁾ (Ver Anexo N°14)
- NOTA: Realizar simultáneamente un blanco de la misma manera.

4.4.3.7 Procedimiento para la cuantificación de Arsénico (As) en Material Vegetal e Infusiones por espectrofotometría de absorción atómica por generador de hidruros.

Preparación del Blanco

El proceso para la obtención del blanco se encuentra detallado en el procedimiento de solución de ceniza (sección 4.4.3.4) para material vegetal y en el procedimiento de digestión de muestras líquidas (sección 4.4.3.6) para la infusión.

- Tomar una alícuota de 10.0 mL de cada uno de los blancos y transferirlos a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Agregar 1.0 mL de HCl (1:1) y 2.0 mL de solución de KI.
- Llevar a cabo una digestión aplicando calor con ayuda de un hot-plate a una temperatura aproximada de 85°C durante 30 minutos, teniendo cuidado de que no ebulle
- Enfriar la solución y llevar a volumen con agua bidestilada.^(57,35)

Preparación de Soluciones Estándar

- A partir de una solución madre de arsénico (1000 ppm As) preparar una solución stock de 100 ppb. (Ver Anexo N° 15 Preparación de soluciones stock)
- A partir de la solución stock, hacer las diluciones necesarias para obtener soluciones estándar de 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 5.0 ppb, a cada balón adicionar 4.0 mL de HCl (1:1) y 2.0 mL de KI. (Ver Anexo N° 16 y N° 17 para la preparación de soluciones estándar)
- Llevar a cabo una digestión aplicando calor con ayuda de un hot-plate a una temperatura aproximada de 85°C durante 30 minutos, teniendo cuidado de que no ebulle.
- Enfriar la solución y llevar volumen con agua bidestilada. ^(57,35)

Preparación de la Muestra

- Tomar una alícuota de 10.0 mL de la solución de ceniza y 10.0 mL de la solución de digestión de muestras líquidas con ayuda de una pipeta volumétrica de 10.0 mL.
- Transferir a un balón volumétrico de 50.0 mL y agregar 1.0 mL de ácido clorhídrico (1:1) y 2.0 mL de solución de yoduro de potasio.
- Aplicar calor con ayuda de un hot-plate, aproximadamente a una temperatura de 85°C por 30 minutos, teniendo cuidado de que no ebulle.
- Dejar enfriar la solución.
- Aforar con agua bidestilada y homogeneizar. (57,35)

Lectura

- Tomar alícuotas de 10 mL en tubos de ensayo del blanco, de los estándares de arsénico y de la muestra a analizar.
- Colocar en el carrito del equipo los tubos de ensayo en el siguiente orden: blanco, soluciones estándar de menor a mayor concentración y luego las muestras.
- Leer en el equipo de absorción atómica a una longitud de onda de 193.7 nm. (Ver Tabla N°2) (Ver Anexo N°18)

4.4.3.8 Procedimiento para la cuantificación de Cadmio, Níquel y Plomo (Cd, Ni, Pb) en Material Vegetal e Infusiones por espectrofotometría de absorción atómica de llama.

Preparación del Blanco

El proceso para la obtención del blanco se encuentra detallada en el procedimiento de la solución de ceniza (sección 4.4.3.4) para material vegetal y en el procedimiento de digestión de muestras líquidas (sección 4.4.3.6) para la infusión.

- Tomar una alícuota de 10.0 mL de cada uno de los blancos obtenidos y adicionarlos en un tubo de ensaño con ayuda de una pipeta volumétrica de 10.0 mL.
- Rotular los blancos y almacenarlos para el momento de la lectura en el equipo de absorción atómica. (84,35)

Preparación de Soluciones Estándar individuales para Cd, Ni y Pb

- A partir de una de una solución madre de 1000 ppm de cada metal pesado, preparar una solución stock de 100 ppm para Cd, Ni y Pb. (Ver Anexo N° 15 Preparación de soluciones stock)
- A partir de la solución stock de cada metal pesado (Cd, Ni y Pb), tomar la alícuota respectiva y hacer las diluciones necesarias para obtener las soluciones estándar indicadas en la tabla N°1. (Ver Anexo N° 16 y N° 17 para la preparación de soluciones estándar)
- Posterior a la toma de la alícuota respectiva colocar 25.0 mL de agua bidestilada y adicionar 5.0 mL de ácido clorhídrico concentrado (calidad AA).
- Llevar a volumen con agua bidestilada y homogenizar.
- Adicionar 10.0 mL de las soluciones estándar de cada metal pesado en tubos de ensayo.
- Rotular y almacenar en refrigeración hasta el momento de la lectura en el equipo de absorción atómica. (84,35)

Muestra

- Tomar alícuotas de 10.0 mL en tubos de ensayo, de la solución muestra obtenida en la solución de ceniza (material vegetal) y de la solución muestra obtenida de la digestión de muestras líquidas (infusiones).
- NOTA: La muestra tratada puede ser utilizada directamente en caso de que la concentración del metal en la muestra sea pequeña. De lo

contrario hacer las diluciones necesarias para que la lectura este dentro de la curva de calibración. (84.35)

Lectura

- Colocar en el carrete del equipo de absorción atómica los tubos de ensayo en el siguiente orden: blanco, soluciones estándar de menor a mayor concentración y luego la muestra.
- Leer en el equipo de absorción atómica a la longitud de onda del metal pesado a determinar. (Ver Tabla N°2) (Ver Anexo N°18)

Tabla N° 2. Soluciones estándar individuales para curva de calibración de cadmio (Cd), níquel (Ni), plomo (Pb) y arsénico (As)

| Metal pesado | Curva de Calibración (ppm) | | | | | Longitud de onda |
|--------------|----------------------------|-------|-------|-------|-------|------------------|
| | Std 1 | Std 2 | Std 3 | Std 4 | Std 5 | λ (nm) |
| Cd | 0.25 | 0.50 | 1.0 | 1.5 | 2.0 | 228.8 |
| Ni | 0.20 | 0.50 | 1.0 | 3.0 | 5.0 | 232.0 |
| Pb | 0.20 | 0.50 | 1.0 | 3.0 | 5.0 | 283.3 |
| | Curva de Calibración (ppb) | | | | | |
| As | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 5.0 | 197.3 |

Fuente: Elaboración propia.

4.5 Análisis Estadístico

A los resultados que se obtuvieron durante la cuantificación de metales pesados en material vegetal e infusiones preparadas de “Manzanilla” y “Té verde” de tres diferentes marcas, se les realizó una prueba de normalidad para conocer el comportamiento que tienen los datos aplicando la prueba de Shapiro-Wilk y así determinar si estos poseen una distribución normal o una distribución atípica por medio del programa Microsoft Excel 365.

Los resultados que presentaron un comportamiento normal, se les aplicó un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA) con el fin de evaluar si existen diferencias significativas entre las muestras de las marcas seleccionadas. En caso contrario, a los que presentaron un comportamiento atípico (no paramétrico) se aplicó la prueba de Kruskal-Wallis la cual sigue el mismo principio que la prueba ANOVA, con la diferencia que no asume la normalidad en los datos. Se utilizó el programa estadístico “Statgraphics Centurion XVI.I” para la evaluación de estos datos.

Se estableció como hipótesis nula (H_0) “no existen diferencias estadísticamente significativas entre las muestras”, es decir no hay diferencias con relación a la concentración de metales pesados en tres diferentes marcas (Mondaisa-McCormick-Selectos); y como hipótesis alternativa (H_1) se estableció que “si existen diferencias estadísticamente significativas entre las muestras”, es decir existen diferencias con relación a la concentración de metales pesados en tres diferentes marcas (Mondaisa-McCormick-Selectos). Trabajando con un P valor de 0.05 y un nivel de confianza del 95.0%.

CAPITULO V
RESULTADOS
Y
DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Resultados de la encuesta dirigida a la población estudiantil de cuarto y quinto año de la Facultad de Química y Farmacia del Campus Central de la Universidad de El Salvador.

Con la finalidad de determinar las tres marcas de infusiones que son de preferencia para los estudiantes de 4to año de la cátedra de Farmacognosia y 5to año de la cátedra de Tecnología Farmacéutica, se realizó una encuesta digital a través de Google Form (Ver Anexo N°1) a un total de 106 estudiantes comprendidos entre las dos cátedras.

Los resultados en la encuesta referente a los datos personales muestran que la población estudiantil encuestada está comprendida en un 66% por el género femenino y un 34% por el género masculino. De igual forma, se observa que la mayoría se encuentra en el rango de edad de los 22 a los 25 años, representando un 73% de los encuestados. (Ver Anexo N°19)

El nivel académico comprende a estudiantes de 4to año de la cátedra de Farmacognosia y 5to año de la cátedra de Tecnología Farmacéutica. Esto comprende un 55% de los encuestados pertenecientes a cuarto año, un 43% a quinto año y un 2% que no brindó dicha información.

El consumo de infusiones de “Manzanilla” y “Te verde” por parte de los estudiantes refleja en la encuesta un 92.5% afirmando que si ingieren este tipo de bebidas y un 7.5% que no las ingieren. De igual forma se consultó la frecuencia de consumo de este tipo de bebidas y se observa que la mayoría en un 40.6% las consume una vez por semana; el 19.8% dos veces por semana; el 10.4% tres veces por semana; 3.8% diariamente; y un porcentaje menor al 1% engloba un consumo menor a tres veces al mes o solamente cuando presentan algún tipo de malestar y/o enfermedad. Así mismo, manifestaron los estudiantes

en un 72.4% que acostumbran a consumir infusiones por las noches, un 16.2% al medio día/tarde y un 11.4% por las mañanas.

Al consultarle a los estudiantes sobre si tienen conocimiento de las “propiedades medicinales” de las infusiones que consumen el 92.5% afirma que si poseen conocimientos sobre dichas propiedades y un 7.5% que no. Así mismo se logra identificar que el 93.4% considera que este tipo de bebidas aportan algún tipo de beneficio a la salud y un 6.6% manifiesta lo contrario. (Ver Anexo N°19)

5.1.1 Selección de las marcas de preferencia de infusiones de “Manzanilla” y “Té Verde”

Para seleccionar las marcas de preferencia de infusiones de “manzanilla” y “té verde” por parte de los estudiantes, se analizó la pregunta N°4 de la encuesta mostrando los siguientes resultados:

Pregunta N°4. ¿Cuáles son las marcas que prefiere?

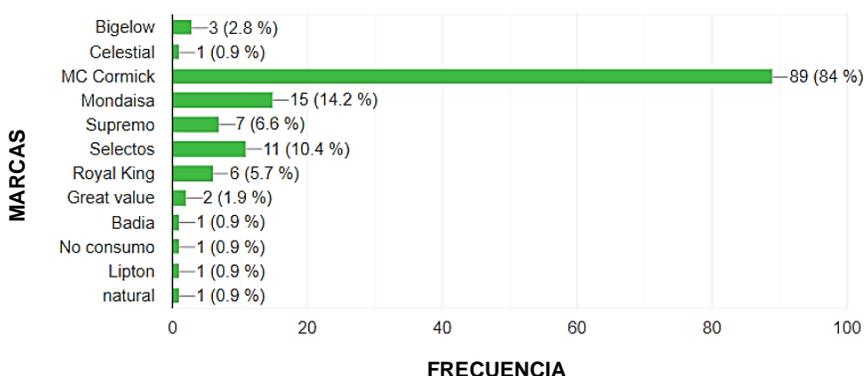


Figura N° 9. Gráfico de barras que representa las marcas de infusiones que son de preferencia por los estudiantes encuestados.
Fuente: Elaboración propia

En la figura N°9 se observan los resultados sobre las marcas de infusiones de “manzanilla” y “té verde” que son de preferencia para los estudiantes encuestados. Las marcas que fueron mayormente seleccionadas son: Mc McCormick (84%), Mondaisa (14.2%) y Selectos (10.4%).

Siendo así estas marcas las escogidas como muestras para la realización del Análisis Fitoquímico Preliminar y la Determinación de Metales Pesados en material vegetal e infusiones.

5.2 Resultados y discusión del análisis fitoquímico preliminar

Para llevar a cabo el análisis fitoquímico preliminar se realizó la obtención de los extractos correspondientes a material vegetal (método de extracción asistida por ultrasonido) y de infusiones preparadas (método de infusión) para cada una de las marcas seleccionadas como muestras en esta investigación de “Manzanilla” y “Té verde” (Ver Anexo N°7 y N°9). Para identificar cada una de las muestras se llevó a cabo un sistema de codificación que permitiera reconocerlas de forma sencilla. (Ver Cuadro N°4)

Cuadro N° 4. Sistema de codificación para la identificación de muestras en el análisis fitoquímico preliminar

| SISTEMA DE CODIFICACIÓN | | | |
|---|--------|-----------------|--------|
| Marca | Código | Especie vegetal | Código |
| Mondaisa | M | Té verde | Tv |
| McCormick | Mc | Manzanilla | M |
| Selectos | S | - | - |
| Ejemplo: Marca – Especie vegetal SM: Selectos - Manzanilla | | | |

Fuente: Elaboración propia.

5.2.1 Identificación de Glicósidos Saponínicos

Para ambas especies vegetales *Camellia sinensis* (L.) Kuntze y *Matricaria chamomilla* L. se obtuvieron resultados negativos para la identificación de saponinas por el método de la espuma. Ninguna de las muestras formo espuma por arriba de 1 cm y que perdurara por más de 1 minuto. Por lo tanto,

se concluye que no hay presencia de glicósidos saponínicos en dichas muestras. Y de igual manera en base a este resultado se decidió no realizar la prueba de cromatografía en capa fina (Prueba de Komarowski) ya que queda descartado la presencia de este grupo fitoquímico en estas especies vegetales. Los estudios realizados por García (2009) en “Manzanilla”⁽²⁷⁾ y Tejada (2009) en “Té verde”⁽⁹⁰⁾, realizan la identificación de metabolitos secundarios respectivamente; ambos reportan la ausencia de saponinas para dichas especies vegetales, por los que ambos respaldan los resultados obtenidos en esta investigación.

Tabla N° 3. Resultados obtenidos en la identificación de glicósidos saponínicos por el método de la espuma

| Método de Extracción | Código | Tiempos | | | | |
|----------------------|--------|---------|-------|--------|--------|--------|
| | | 1 min | 5 min | 10 min | 15 min | 30 min |
| Infusión | SM | - | - | - | - | - |
| | McM | - | - | - | - | - |
| | MM | - | - | - | - | - |
| | STv | - | - | - | - | - |
| | McTv | - | - | - | - | - |
| | MTv | - | - | - | - | - |
| Ultrasonido | SM | - | - | - | - | - |
| | McM | - | - | - | - | - |
| | MM | - | - | - | - | - |
| | STv | - | - | - | - | - |
| | McTv | - | - | - | - | - |
| | MTv | - | - | - | - | - |

Fuente: Elaboración propia.

5.2.2 Identificación de Glicósidos Cardiotónicos

La especie que resultó positiva en esta prueba fue *Camellia sinensis* (L.) Kuntze tanto en la infusión preparada como en el material vegetal. La evidencia positiva son manchas de color púrpura o violáceo. En la actualidad existen estudios que reportan a los glicósidos cardiotónicos como prometedores anticancerígenos.⁽³⁵⁾

Para “Té verde”, en la identificación de glicósidos cardiotónicos con los agentes reveladores Kedde A y Kedde B se debe a la reacción de estos agentes con los agrupamientos lactónicos.⁽³⁵⁾

De igual manera estos agrupamientos lactónicos se encuentran formando parte estructural de las cumarinas, ante los cuales también se obtuvieron resultados positivos al reaccionar con el agente revelador de esta prueba (KOH 5%), el cual también identifica la misma parte de la molécula (lactona insaturada). Por lo que, el resultado positivo para cardiotónicos podría ser un falso positivo, ya que estos metabolitos no son constituyentes característicos de esta especie y lo que este generando el resultado positivo al reactivo de Kedde sea lactona insaturada de las cumarinas.⁽³⁵⁾

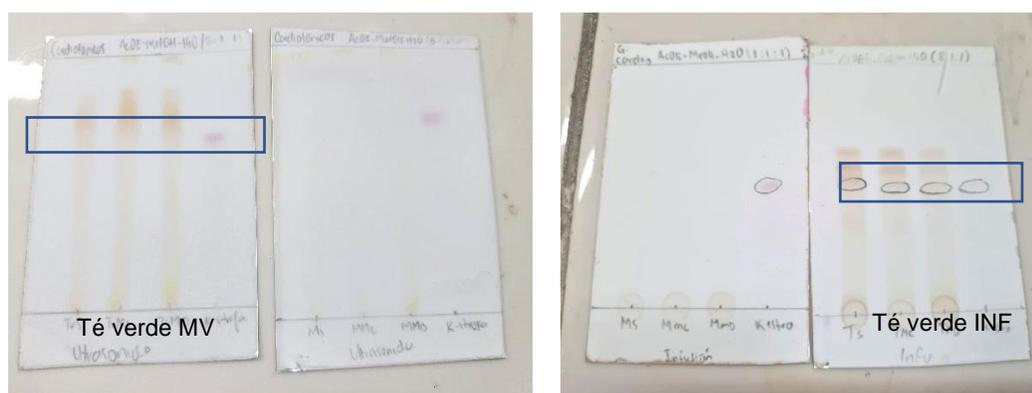


Figura N° 10. Resultados positivos en la identificación de glicósidos cardiotónicos en "Té verde". Fuente: Elaboración propia.

Para "Manzanilla" se obtuvieron resultados negativos a este grupo de metabolitos. En un estudio realizado por García et al (2009) ⁽²⁷⁾, quienes llevaron a cabo la identificación de metabolitos secundarios en extractos secos de flores de "Manzanilla" se obtuvieron resultados negativos a la presencia de cardiotónicos en dichos extractos secos. Por lo que este estudio respalda los resultados negativos obtenidos en esta investigación sobre la identificación de estos de estos metabolitos en la especie *Matricaria chamomilla* L.

Tabla N° 4. Resultados obtenidos en la identificación de glicósidos cardiotónicos

| Método de Extracción | Código | Resultado de la prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.40 |
| | McTv | + | 0.39 |
| | MTv | + | 0.39 |
| Ultrasonido | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.76 |
| | McTv | + | 0.74 |
| | MTv | + | 0.74 |

Fuente: Elaboración propia.

5.2.3 Identificación de Flavonoides

La prueba positiva se evidencia con fluorescencia amarilla a la luz UV-365 nm, las cuáles fueron visibles en la especie *Matricaria chamomilla* L., tanto en la infusión preparada como en material vegetal. Los flavonoides tienen alta capacidad de absorción en la región UV del espectro, por la presencia de sistemas aromáticos conjugados en su composición. La aspersion con tricloruro de aluminio en solución alcohólica, forma complejos metálicos con los sistemas -4-ceto-5/3-hidroxi, al igual que con los grupos O-dihidroxi del anillo aromático B, obteniéndose fluorescencia amarilla. (67)

En la especie *Matricaria chamomilla* L. se han encontrado numerosas flavonolas y flavonoles como constituyentes de esta especie, entre las cuales se pueden mencionar a la apigenina (mayoritaria) y la Quercetina. (67). En un estudio realizado por García et al (2009), llevaron a cabo la identificación de metabolitos secundarios en extractos secos de flores de “Manzanilla” y se reportan resultados positivos para flavonoides. Por lo que este estudio respalda los resultados obtenidos en esta investigación sobre la presencia de estos metabolitos en la especie *Matricaria chamomilla* L. (25)

Tabla N° 5. Resultados obtenidos en la identificación de flavonoides

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | + | 0.56 |
| | McM | + | 0.56 |
| | MM | + | 0.54 |
| | STv | - | - |
| | McTv | - | - |
| | MTv | - | - |
| Ultrasonido | SM | + | 0.82 |
| | McM | + | 0.82 |
| | MM | + | 0.82 |
| | STv | - | - |
| | McTv | - | - |
| | MTv | - | - |

Fuente: Elaboración propia.

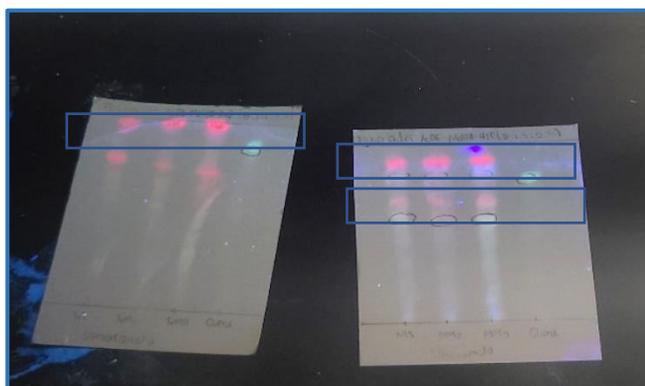


Figura N° 11. Resultados positivos en la identificación de flavonoides en "Manzanilla". Fuente: Elaboración propia.

Caso contrario con la especie vegetal *Camellia sinensis* (L.) Kuntze ante la cual se obtuvieron resultados negativos a flavonoides tanto en material vegetal como en infusiones. En un estudio realizado por Cruz (2017) evaluaron la estabilidad térmica y capacidad antioxidante del "Té verde", en el cual se menciona que la ausencia de flavonoides puede deberse a que estos componentes sufren degradación o epimerización (estereoisómero de otro compuesto que tiene una configuración diferente en uno de sus centros estereogénicos, específicamente en sus carbonos 2, 3 o 4) por efecto de las condiciones de procesamiento

(temperatura y pH) y tiempo de almacenamiento de los alimentos que contienen estos compuestos.⁽¹²⁾ Y debido a que se desconoce el pretratamiento que tienen los materiales vegetales, estos pudieron haber sufrido algún tipo de acción que provocara la destrucción de estos metabolitos.

5.2.4 Identificación de Antraquinonas

Tabla N° 6. Resultados obtenidos en la identificación de Antraquinonas

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.41 |
| | McTv | + | 0.39 |
| | MTv | + | 0.39 |
| Ultrasonido | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.76 |
| | McTv | + | 0.74 |
| | MTv | + | 0.74 |

Fuente: Elaboración propia.

La prueba es positiva cuando se observan manchas de color rosado, que son características para identificar el anillo cromona presente en la estructura, debido al estado de resonancia de los grupos hidroxilos fenólicos, que reaccionan con la base fuerte, formando las correspondientes sales de potasio.⁽²⁰⁾ Las antraquinonas hidroxiladas poseen la propiedad de formar sales con los álcalis, lo que permite su identificación a través de los cambios de coloración de las soluciones, de amarillo a rojo, violeta, verde o púrpura todo esto debido a la formación de sistemas conjugados de los grupos hidroxilos aromáticos y grupos carbonilos. ⁽²⁸⁾

La especie con resultado positiva es la *Camellia sinensis* (L.) Kuntze tanto en infusión preparada como en el material vegetal. Aunque cabe mencionar que

según estudios realizados en otras investigaciones: Ramos (2010) y Tejada (2009) donde realizaron análisis cualitativos de los principales activos en “Té verde” y no se reporta la presencia de antraquinonas, pero si la de compuestos polifenólicos como taninos y catequinas. Por lo que se manifiesta el supuesto de que los componentes antes mencionados puedan generar un resultado falso positivo en esa prueba ya que el revelador de KOH 5% estaría identificando la resonancia de OH fenólicos de los compuestos polifenólicos y no estrictamente de las antraquinonas. (90,77,31)

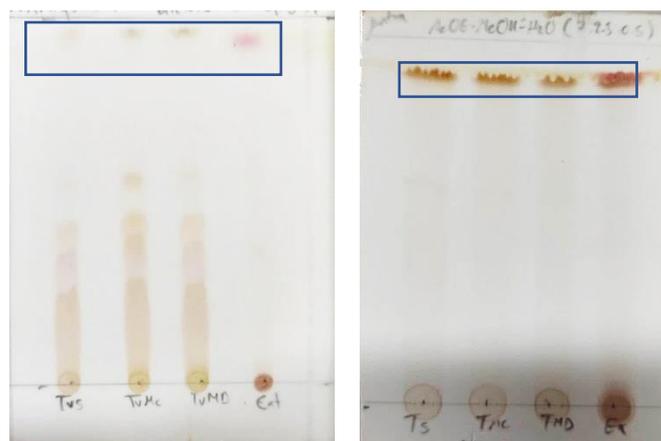


Figura N° 12. Resultados positivos en la identificación de antraquinonas en “Té verde”. Fuente: Elaboración propia.

De igual manera se obtuvieron resultados negativos para antraquinonas en material vegetal e infusiones de “Manzanilla”. En un estudio realizado por García et al (2009), llevaron a cabo la identificación de metabolitos secundarios en extractos secos de flores de “Manzanilla” y se reportan resultados negativos para antraquinonas. Por lo que este estudio respalda los resultados obtenidos en esta investigación sobre la presencia de estos metabolitos en la especie *Matricaria chamomilla* L.(25)

5.2.5 Identificación de Taninos

Tabla N° 7. Resultados obtenidos en la identificación de Taninos

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.91 |
| | McTv | + | 0.91 |
| | MTv | + | 0.91 |
| Ultrasonido | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.94 |
| | McTv | + | 0.94 |
| | MTv | + | 0.94 |

Fuente: Elaboración propia.

Al realizar la prueba de identificación en la especie vegetal *Camellia sinensis* (L.) Kuntze se obtuvo la presencia de taninos en material vegetal e infusión preparada, los cuales son los principales constituyentes del té; La evidencia positiva son manchas azules, grises y verdes al UV visible. (45)

Los taninos son compuestos polifenólicos con ciertas propiedades y reacciones características, entre ellas, dan coloraciones azules o verdes con soluciones de sales férricas. Es posible clasificar a los taninos en dos grupos principales:

- Taninos hidrolizables: consistentes en un núcleo central de carbohidrato al que se unen ácidos carboxílicos fenólicos por enlace éster, estos dan un color azul oscuro con solución de cloruro férrico.
- Taninos condensados: llamados también proantocianidinas, constituidos por oligómeros de dos o más flavanoles y dan un color negro verdoso con sales de hierro. (22)

Según los resultados reportados en Cardet (2011), se llevó a cabo la caracterización de la composición fenólica de la *Camellia sinensis* (L.) Kuntze donde se afirma la presencia de taninos. Por lo que este estudio respalda los

resultados obtenidos en esta investigación sobre la presencia de estos metabolitos en la especie *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (11).

En un estudio realizado por García et al (2009), llevaron a cabo la identificación de metabolitos secundarios en extractos secos de flores de “Manzanilla” y se reportan resultados negativos para taninos. Por lo que este estudio respalda los resultados obtenidos en esta investigación sobre la ausencia de taninos en material vegetal e infusiones en la especie *Matricaria chamomilla* L.(25)

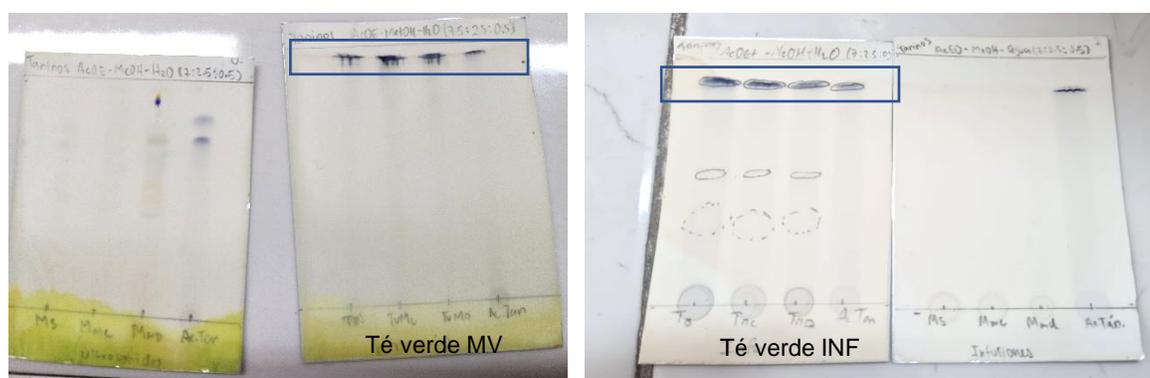


Figura N° 13. Resultados positivos de la identificación de taninos en “Té verde”
Fuente: Elaboración propia.

5.2.6 Identificación de Alcaloides

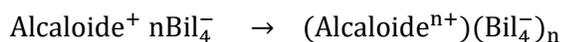
Tabla N° 8. Resultados obtenidos en la identificación de Alcaloides

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|----|
| Infusión | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | - | - |
| | McTv | - | - |
| | MTv | - | - |
| Ultrasonido | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | - | - |
| | McTv | - | - |
| | MTv | - | - |

Fuente: Elaboración propia.

Para la comprobación de la presencia de alcaloides se realizó la técnica de cromatografía de capa fina, utilizando como el agente revelador reactivo de Dragendorff. El mecanismo de este reactivo Dragendorff se debe a que reacciona con los alcaloides a través del átomo de nitrógeno para formar pares de iones insolubles en agua, como resultado se observa la aparición del color naranja.⁽⁶⁷⁾

El mecanismo de reacción general propuesto de alcaloides en presencia del reactivo de Dragendorff es el siguiente:⁽⁹³⁾



Al utilizar el revelador Dragendorff no se observó el apareamiento de manchas de color naranja a la luz UV visible, por lo que el resultado de la prueba de identificación de alcaloides es negativo para ambas especies estudiadas.

Se ha encontrado en la literatura que los resultados pueden verse afectados debido a que el contenido en alcaloides puede ser muy desigual según los órganos analizados y algunos pueden carecer de ellos, como lo es en el caso del “Té verde”, ya que son utilizadas las hojas verdes, tiernas y jóvenes de la planta en las cuales predominan los compuestos polifenoles. De igual manera, el material vegetal contiene a menudo cantidades apreciables de grasas (las semillas) así como ceras, terpenos, pigmentos y otras sustancias lipófilas, las cuales pueden interferir en el proceso extractivo de los alcaloides y por lo consiguiente afectar el proceso de identificación.⁽¹⁰⁾

La literatura también indica que el “Té verde” posee cierta cantidad de un compuesto conocido como Teína el cual, al ser estructuralmente similar a la cafeína, se considera como un alcaloide, pero realmente pertenece a las bases xánticas junto a la teofilina, teobromina y adenina. ⁽¹⁰⁾

En un estudio realizado por García et al (2009) ⁽²⁵⁾, llevaron a cabo la identificación de metabolitos secundarios en extractos secos de flores de

“Manzanilla” y se reportan resultados negativos para alcaloides. Por lo que este estudio respalda los resultados obtenidos en esta investigación.

5.2.7 Identificación de Sesquiterpenlactonas

Para la identificación de Sesquiterpenlactonas se utilizó la fase n-hexano – Acetato de Etilo (7:3) para “Manzanilla” y Acetato de etilo – Metanol – Agua (8:1:1) para “Té verde”, como agente revelador el reactivo de Baljet que identifica lactonas insaturadas y está constituido por una mezcla equivalente de dos soluciones: ácido pícrico 1% en etanol e hidróxido de sodio 10% en agua. La evidencia positiva de esta prueba es la aparición de manchas color naranja.

La literatura química propone que la reacción se basa en una desprotonación de la lactona insaturada en medio alcalino, proporcionado por el hidróxido de sodio, y el carbatión formado sufre una adición nucleofílica sobre el ácido pícrico, lo cual genera un complejo coloreado llamado “Complejo Meisenheimer”.⁽²²⁾

Tabla N° 9. Resultados obtenidos en la identificación de Sesquiterpenlactonas

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.54 |
| | McTv | + | 0.54 |
| | MTv | + | 0.53 |
| Ultrasonido | SM | - | - |
| | McM | - | - |
| | MM | - | - |
| | STv | + | 0.75 |
| | McTv | + | 0.74 |
| | MTv | + | 0.74 |

Fuente: Elaboración propia.

Los principales constituyentes en la planta de “Manzanilla” son las sesquiterpenlactonas. Se ha logrado aislar e identificar mediante métodos espectroscópicos y comparación con datos de la literatura, una lactona sesquiterpénica, denominada matricolona.⁽⁴⁰⁾

En nuestro análisis no se detectaron sesquiterpenlactonas, estos metabolitos se encuentran en mayor proporción cuando la planta se encuentra fresca; de igual manera son compuestos muy sensibles al calor y al ser expuestos a éste se genera la destrucción de la lactona insaturada por lo cual no se lleva a cabo la reacción de coloración que evidencia su presencia. ⁽³⁵⁾ Y debido a que se desconoce el pretratamiento que tienen los materiales vegetales, estos pudieron haber sufrido algún tipo de calentamiento que provocara la destrucción de estos metabolitos.

De igual manera se observó el aparecimiento de manchas color naranja en material vegetal e infusión preparada de “Manzanilla” el cual podría considerarse como un falso positivo, ya que el agente revelador de Baljet identifica lactonas insaturadas y lo que este brindando el resultado positivo sea la lactona insaturada de las cumarinas ⁽¹⁶⁾ y no estrictamente la presencia de sesquiterpenlactonas, ya que estos metabolitos no se encuentran en esta especie vegetal. En un estudio de Tejada (2009) no se reporta la presencia de estos metabolitos, lo que respalda el supuesto del falso positivo ante esta prueba.⁽⁹⁰⁾

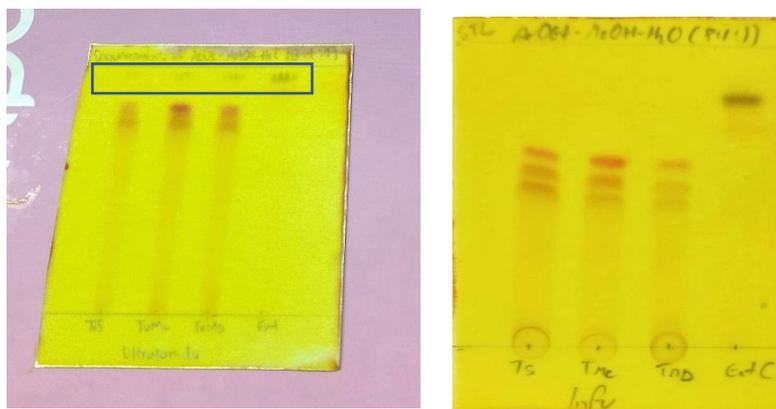


Figura N° 14. Resultados positivos en la identificación de sesquiterpenlactonas en “Té verde”. Fuente: Elaboración propia.

5.2.8 Identificación de Cumarinas

Ambas especies resultaron positivas para cumarinas en material vegetal e infusiones preparadas, la evidencia de la prueba son manchas de color azul fluorescente a la luz UV-365nm utilizando el reactivo revelador hidróxido de potasio 5% en metanol el cual logra intensificar la fluorescencia, debido a la apertura de la lactona que constituye a las cumarinas.⁽⁴³⁾ Son compuestos ampliamente distribuidos en las especies vegetales y se caracterizan por el sistema benzo- α -pirona y por su carácter lactónico. Poseen actividad antioxidante, anticancerígena, antiinflamatoria, antimicrobiana y anticoagulante, las cuales son algunas de las actividades biológicas que se les atribuye a estas dos especies vegetales. ⁽⁴²⁾

Se ha demostrado que la “Manzanilla” posee cumarinas: dioxicumarina, herniarina y umbeliferona; carotenos; vitamina C; Ácido salicílico y esteroides derivados del estigmasterol, apiína, jolina y fitosterina.⁽⁴⁷⁾ En un estudio reciente realizado por Melo et al (2020), se realizó una comparación de la composición química de “Manzanilla” en extractos obtenidos con fluidos supercríticos y se reporta la presencia de cumarinas. Por lo que este estudio respalda los resultados obtenidos en esta investigación sobre la presencia de estos metabolitos en la especie *Matricaria chamomilla* L. ⁽⁴⁷⁾

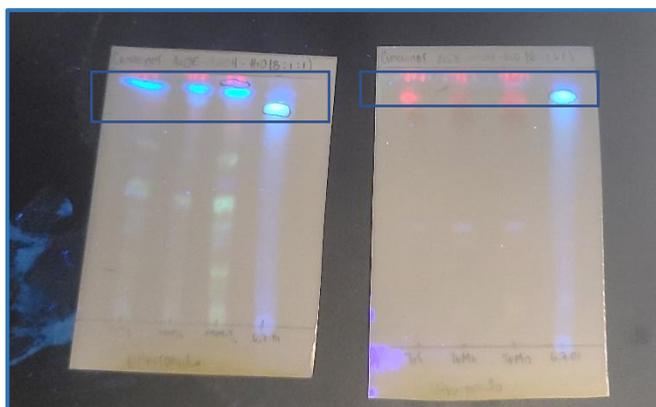


Figura N° 15. Resultados positivos en la identificación de cumarinas en “Manzanilla” y “Té verde”. Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 10. Resultados obtenidos en la identificación de Cumarinas

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | + | 0.72 |
| | McM | + | 0.71 |
| | MM | + | 0.72 |
| | STv | + | 0.71 |
| | McTv | + | 0.73 |
| | MTv | + | 0.74 |
| Ultrasonido | SM | + | 0.94 |
| | McM | + | 0.92 |
| | MM | + | 0.92 |
| | STv | + | 0.41 |
| | McTv | + | 0.41 |
| | MTv | + | 0.41 |

Fuente: Elaboración propia.

Asi mismo en un estudio realizado por Tapia (2007) se realiza una comparación de las propiedades bioquímicas y fisiológicas del té (*Camellia sinensis*) donde se reportan la presencia de cumarinas por lo que dichos resultados positivos respaldan los obtenidos en esta investigación para material vegetal e infusión preparada de la especie *Camellia sinensis* (L.) Kuntze.⁽⁸⁹⁾

5.2.9 Identificación de Terpenoides

Los terpenoides son a menudo llamados isoprenoides teniendo en cuenta que el isopreno es su precursor biológico. Presentan una gran variedad estructural, derivan de la fusión repetitiva de unidades ramificadas de cinco carbonos basadas en la estructura del isopentenilo.⁽³⁵⁾

Utilizando una fase n-hexano – Acetato de etilo (1:1) para “Manzanilla” y Acetato de etilo – Metanol – agua (8:1:1) para “Té verde”, se obtuvo un resultado positivo para ambas especies vegetales con evidencia de manchas de color violeta, rojo y azul a la luz uv visible.

El reactivo revelador vainillina en ácido sulfúrico permite que el ácido sulfúrico induzca a una deshidratación y de lugar a la formación de productos intermedios de tipo olefínico (productos con dobles enlaces), que posteriormente se condensan con el aldehído y generan las diversas coloraciones.⁽⁸³⁾

La especie vegetal “Manzanilla” posee una gran variedad de aceites esenciales los cuales están compuesto de terpenos de bajo peso molecular, por lo que el resultado positivo a la prueba de Terpenoides se debe gracias a estos compuestos.⁽¹⁹⁾

En un análisis realizado por Tejada (2009) sobre los principales activos químicos en *Camellia sinensis* (L.) Kuntze se destaca que esta especie vegetal posee aceites esenciales compuestos por terpenos volátiles, aquellos cuya masa molecular no es muy elevada, también contienen mono y sesquiterpenos. Por lo que este estudio respalda los resultados positivos obtenidos a estos metabolitos en esta investigación.⁽⁹⁰⁾

Tabla N° 11. Resultados obtenidos en la identificación de Terpenoides

| Método de Extracción | Código | Resultado de la Prueba | Rf |
|----------------------|--------|------------------------|------|
| Infusión | SM | + | 0.72 |
| | McM | + | 0.70 |
| | MM | + | 0.72 |
| | STv | + | 0.58 |
| | McTv | + | 0.58 |
| | MTv | + | 0.56 |
| Ultrasonido | SM | + | 0.66 |
| | McM | + | 0.66 |
| | MM | + | 0.66 |
| | STv | + | 0.81 |
| | McTv | + | 0.83 |
| | MTv | + | 0.83 |

Fuente: Elaboración propia.



Figura N° 16. Resultado positivo en la identificación de terpenoides en “Manzanilla” y “Té verde”. Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 12. Resumen del análisis fitoquímico preliminar

| METABOLITO SECUNDARIO | Mondaisa | | | | McCormick | | | | Selectos | | | |
|--------------------------|----------|----|------------|----|-----------|----|------------|----|----------|----|------------|----|
| | Té Verde | | Manzanilla | | Té Verde | | Manzanilla | | Té Verde | | Manzanilla | |
| | Inf | MV | Inf | MV | Inf | MV | Inf | MV | Inf | US | Inf | MV |
| Glicósidos saponínicos | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Glicósidos cardiotónicos | + | + | - | - | + | + | - | - | + | + | - | - |
| Flavonoides | - | - | + | + | - | - | + | + | - | - | + | + |
| Antraquinonas | + | + | - | - | + | + | - | - | + | + | - | - |
| Taninos | + | + | - | - | + | + | - | - | + | + | - | - |
| Alcaloides | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Sesquiterpenlactonas | + | + | - | - | + | + | - | - | + | + | - | - |
| Cumarinas | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| Terpenoides | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |

Inf: infusiones ; MV: material vegetal. Fuente: Elaboración propia.

5.3 Resultados de la determinación de metales pesados

5.3.1 Resultados digestión por vía Seca - Material Vegetal.

Antes de realizar la determinación de metales pesados, se llevó a cabo un pretratamiento de las muestras, dichas pruebas consisten en la determinación del porcentaje de humedad total y la determinación del porcentaje de ceniza. Para identificar a cada una de las muestras se llevó un sistema de codificación general que permitiera identificarlas de forma sencilla.

Cuadro N° 5. Sistema de codificación para la identificación de muestras para la determinación de metales pesados

| SISTEMA DE CODIFICACIÓN | | | |
|---|---------------|----------------|---------------|
| Marca | Código | Muestra | Código |
| Mondaisa | M | Té verde | Tv |
| McCormick | Mc | Manzanilla | M |
| Selectos | S | N° de muestra | 1, 2 o 3 |
| Ejemplo: Marca – Especie Vegetal – N° de muestra MM1 : Mondaisa – Manzanilla - 1 | | | |

Fuente: Elaboración propia.

Tabla N° 13. Resultados de la determinación del porcentaje de humedad total en material vegetal (%HT)

| Código | % Humedad Total | Promedio | ± DS |
|--------|-----------------|----------|------|
| MM1 | 9.14 | 9.22 | 0.08 |
| MM2 | 9.30 | | |
| MM3 | 9.22 | | |
| McM1 | 8.81 | 8.88 | 0.08 |
| McM2 | 8.98 | | |
| McM3 | 8.87 | | |
| SM1 | 9.30 | 9.41 | 0.11 |
| SM2 | 9.39 | | |
| SM3 | 9.54 | | |
| MTv1 | 6.66 | 7.44 | 0.68 |
| MTv2 | 7.72 | | |
| MTv3 | 7.94 | | |

Tabla N° 13. (Continuación)

| | | | |
|-------|------|------|------|
| McTv1 | 8.04 | 7.99 | 0.04 |
| McTv2 | 7.97 | | |
| McTv3 | 7.96 | | |
| STv1 | 8.24 | 8.22 | 0.02 |
| STv2 | 8.20 | | |
| STv3 | 8.22 | | |

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados obtenidos, para ambas especies vegetales “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té Verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) de las tres marcas analizadas, todas se encuentran dentro del rango establecido por la OMS, la cual establece un límite permitido del 12%.⁽⁵⁷⁾ Por lo que todas las muestras cumplen ya que presentan un porcentaje de humedad inferior a este. Dichos resultados son favorables ya que el contenido de humedad de las materias vegetales medicinales preparadas para su uso en forma seca debe mantenerse lo más bajo posible, con el fin de reducir los daños ocasionados por mohos y otros tipos de infestación por microbios. De igual forma evitamos algún tipo de daño sobre los componentes químicos activos a los cuales se les atribuyen los efectos benéficos en la salud del ser humano. ⁽³⁵⁾

Tabla N° 14. Resultados de la determinación del porcentaje de ceniza en material vegetal (%Cz)

| Código | % Ceniza | Promedio | ± DS |
|--------|----------|----------|------|
| MM1 | 14.17 | 13.63 | 0.46 |
| MM2 | 13.34 | | |
| MM3 | 13.37 | | |
| McM1 | 7.43 | 7.47 | 0.07 |
| McM2 | 7.42 | | |
| McM3 | 7.56 | | |
| SM1 | 12.75 | 13.61 | 0.74 |
| SM2 | 13.94 | | |
| SM3 | 14.13 | | |
| MTv1 | 13.99 | 13.64 | 0.59 |
| MTv2 | 13.97 | | |

Tabla N° 14. (Continuación)

| | | | |
|-------|-------|-------|------|
| MTv3 | 12.95 | | |
| McTv1 | 14.10 | 13.37 | 0.73 |
| McTv2 | 13.38 | | |
| McTv3 | 12.62 | | |
| STv1 | 9.57 | 12.45 | 2.50 |
| STv2 | 13.74 | | |
| STv3 | 14.04 | | |

Fuente: Elaboración propia.

Según los resultados obtenidos, para ambas especies vegetales “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té Verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) de las tres marcas analizadas, todas se encuentran dentro del rango establecido por la OMS, la cual establece un límite permitido del 14%.⁽⁵⁷⁾ La marca Mc McCormick de manzanilla (McM) presenta un porcentaje bastante bajo correspondiente a un 7.47%; mientras que el resto de las marcas y en ambas especies vegetales sus porcentajes oscilan entre el 12.40% al 13.65% valores cercanos al límite permitido, sin embargo, ninguna muestra sobrepasa dicho valor. Esto es importante dado que el porcentaje de ceniza detectado en las plantas puede reflejar un indicio sobre la presencia de minerales.⁽³⁵⁾

5.3.2 Resultados y discusión de la determinación de arsénico

Tabla N° 15. Resultados de la determinación de arsénico en material vegetal (MV) e infusiones (Inf)

| Código de Muestra | Abs en MV | Abs en Inf. | Peso de muestra MV | Concentración de As (ppm) en MV | Limite según normativas internacionales | | |
|-------------------|-----------|-------------|--------------------|---------------------------------|---|----------|---------|
| | | | | | OMS | EMEA | Ph. Eur |
| MTv1 | 2.1855 | MLC | 10.005 | 0.1092 | 10.0 ppm | 1.50 ppm | - |
| MTv2 | 1.9249 | MLC | 10.001 | 0.0962 | | | |
| MTv3 | 1.6270 | MLC | 10.001 | 0.0813 | | | |
| McTv1 | 1.8411 | MLC | 10.003 | 0.0920 | | | |
| McTv2 | 1.6642 | MLC | 10.004 | 0.0832 | | | |
| McTv3 | 1.9156 | MLC | 10.004 | 0.0957 | | | |
| STv1 | 3.4515 | MLC | 10.002 | 0.1725 | | | |

Tabla N° 15. (Continuación)

| | | | | | | | |
|------|--------|-----|--------|--------|--|--|--|
| STv2 | 4.2334 | MLC | 10.002 | 0.2116 | | | |
| STv3 | 4.4475 | MLC | 10.005 | 0.2223 | | | |
| MM1 | 3.8238 | MLC | 10.001 | 0.1912 | | | |
| MM2 | 3.6377 | MLC | 10.004 | 0.1818 | | | |
| MM3 | 3.7308 | MLC | 10.004 | 0.1865 | | | |
| McM1 | 4.1124 | MLC | 10.004 | 0.2055 | | | |
| McM2 | 4.1031 | MLC | 10.005 | 0.2051 | | | |
| McM3 | 4.0100 | MLC | 10.004 | 0.2004 | | | |
| SM1 | 4.2521 | MLC | 10.000 | 0.2126 | | | |
| SM2 | 3.9728 | MLC | 10.002 | 0.1986 | | | |
| SM3 | 4.4196 | MLC | 10.001 | 0.2210 | | | |

MLC: menor al límite de cuantificación 0.5 ppb = 0.0005 ppm (estándar menor de la curva de calibración)

Fuente: Elaboración propia.

La concentración de arsénico para el material vegetal de las tres marcas analizadas y para ambas especies vegetales “Manzanilla” y “Té Verde” no sobrepasan los límites establecidos por las normativas internacionales, por lo que se puede afirmar que todas las muestras cumplen (ver Tabla N°15). Con relación a los resultados obtenidos para las muestras de infusiones, estas presentan una concentración menor al límite cuantificación establecido de 0.5 ppb = 0.0005 ppm que corresponde al estándar menor de arsénico. Por lo tanto, dichos niveles de concentración ya no son cuantificables.

Tabla N° 16. Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de arsénico (As) en material vegetal

| n | Xi | (Xi-MED)^2 | ai | Xi INV | Dif(Xi - Xi INV) | | Promedio Xi |
|---|--------|------------|--------|--------|------------------|--|---------------|
| 1 | 0.0813 | 0.0070 | 0.4886 | 0.2223 | -0.1409 | | 0.1648 |
| 2 | 0.0832 | 0.0067 | 0.3253 | 0.2210 | -0.1378 | | SUM(Xi-MED)^2 |
| 3 | 0.0920 | 0.0053 | 0.2553 | 0.2126 | -0.1206 | | 0.0496 |
| 4 | 0.0957 | 0.0048 | 0.2027 | 0.2116 | -0.1159 | | ai*Dif |
| 5 | 0.0962 | 0.0047 | 0.1587 | 0.2055 | -0.1093 | | -0.2000 |
| 6 | 0.1092 | 0.0031 | 0.1197 | 0.2051 | -0.0958 | | SW c |
| 7 | 0.1725 | 0.0001 | 0.0837 | 0.2004 | -0.0279 | | 0.8062 |
| 8 | 0.1818 | 0.0003 | 0.0496 | 0.1986 | -0.0168 | | SW t |
| 9 | 0.1865 | 0.0005 | 0.0163 | 0.1912 | -0.0047 | | 0.8970 |

Tabla N° 16. (Continuación)

| | | | | | | |
|----|--------|--------|--|--------|--|-------------------------------------|
| 10 | 0.1912 | 0.0007 | | 0.1865 | | 0.8062 < 0.8970 = SW c < SW t |
| 11 | 0.1986 | 0.0011 | | 0.1818 | | |
| 12 | 0.2004 | 0.0013 | | 0.1725 | | |
| 13 | 0.2051 | 0.0016 | | 0.1092 | | |
| 14 | 0.2055 | 0.0017 | | 0.0962 | | |
| 15 | 0.2116 | 0.0022 | | 0.0957 | | |
| 16 | 0.2126 | 0.0023 | | 0.0920 | | |
| 17 | 0.2210 | 0.0032 | | 0.0832 | | |
| 18 | 0.2223 | 0.0033 | | 0.0813 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°16 muestra el análisis de datos correspondiente a la concentración de arsénico en material vegetal de “Manzanilla” y “Té verde” a través de la prueba de Shapiro-Wilk, con la finalidad de determinar el tipo de distribución que tienen los datos. En base a los resultados obtenidos, como está reflejado en la tabla el valor de SWc “estadístico de prueba” es menor que Swt “estadístico de tabla” por lo que se dice que los datos tienen una distribución atípica o no paramétrica y se debe aplicar la prueba de Kruskal-Wallis.

Tabla N° 17. Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de arsénico (As) en material vegetal de Té verde.

| Marcas | Tamaño Muestra | Rango Promedio | Estadístico | Valor P |
|--------|----------------|----------------|-------------|-----------|
| MTv | 3 | 4.0 | 5.6 | 0.0608101 |
| McTv | 3 | 3.0 | | |
| STv | 3 | 8.0 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°17 muestra los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis, en la cual se evalúa la hipótesis de que las medianas de la concentración de As dentro de cada uno de los 3 niveles de marcas son iguales. Primero combina los datos de todas las marcas y se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada marca. Puesto que el valor de P es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, se dice que no hay una diferencia estadísticamente

significativa entre las medianas de la concentración de As para material vegetal de “Té verde” entre una marca y otra con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla N° 18. Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de arsénico (As) en material vegetal de Manzanilla.

| Marcas | Tamaño Muestra | Rango Promedio | Estadístico | Valor P |
|--------|----------------|----------------|-------------|-----------|
| MM | 3 | 2.0 | 5.6 | 0.0608101 |
| McM | 3 | 6.0 | | |
| SM | 3 | 7.0 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°18 muestra los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis, en la cual se evalúa la hipótesis de que las medianas de la concentración de As dentro de cada uno de los 3 niveles de marcas son iguales. Primero combina los datos de todas las marcas y se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada marca. Puesto que el valor de P es mayor a 0.05, no se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, se dice que no hay una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de la concentración de As para material vegetal de “Manzanilla” entre una marca y otra, con un nivel del 95.0% de confianza.

Discusión de la determinación de arsénico:

En base a los resultados obtenidos en las pruebas Kruskal Wallis tanto para “Té verde” como para “Manzanilla” se determinó que no existen diferencias estadísticamente significativas para la concentración de arsénico en el material vegetal de las marcas analizadas. Esto demuestra que el material vegetal utilizado por estas empresas tiene concentraciones similares de este metal y que independientemente la proveniencia de la materia prima, técnicas agrícolas aplicadas y procesos de manufactura, ellas cumplen con las normativas internacionales (OMS, EMEA, Ph Eur) y que la ingesta de estas infusiones indistintamente de la marca de preferencia es segura para el consumidor, desde el punto de vista de este metal ya que las fuentes de exposición a metales pesados derivan de diversas fuentes. Cabe mencionar que para las muestras

de infusiones en ambos materiales vegetales y para todas las marcas seleccionadas, se obtuvieron resultados menores al límite de cuantificación (MLC) es decir que los niveles de arsénico podrían estar presentes en concentraciones menores al estándar más bajo establecido en la curva de calibración y que la cuantificación de estas concentraciones mínimas ya no pueden ser medidas ya que se encuentran fuera de los límites especificados. Por lo tanto, no es posible asegurar la presencia o ausencia de arsénico en infusiones de “Manzanilla” y “Té verde”.

5.3.3 Resultados y discusión de la determinación de cadmio

Tabla N° 19. Resultados de la determinación de cadmio (Cd) en material vegetal (MV) e infusiones (Inf)

| Código de Muestra | Abs en MV | Abs en Inf | Peso de muestra MV | Concentración de Cd (ppm) en MV | Limite según normativas internacionales | | |
|-------------------|-----------|------------|--------------------|---------------------------------|---|---------|---------|
| | | | | | OMS | EMEA | Ph. Eur |
| MTv1 | 1.5758 | MLC | 10.005 | 0.1575 | 0.3 ppm | 0.5 ppm | 1.0 ppm |
| MTv2 | 1.6662 | MLC | 10.001 | 0.1666 | | | |
| MTv3 | 1.8108 | MLC | 10.001 | 0.1811 | | | |
| McTv1 | 0.0302 | MLC | 10.003 | 0.0030 | | | |
| McTv2 | 0.0392 | MLC | 10.004 | 0.0039 | | | |
| McTv3 | 0.0356 | MLC | 10.004 | 0.0034 | | | |
| STv1 | 0.3013 | MLC | 10.002 | 0.0301 | | | |
| STv2 | 0.2019 | MLC | 10.002 | 0.0202 | | | |
| STv3 | 0.2516 | MLC | 10.005 | 0.0251 | | | |
| MM1 | 0.8888 | MLC | 10.001 | 0.0889 | | | |
| MM2 | 0.8165 | MLC | 10.004 | 0.0816 | | | |
| MM3 | 0.8526 | MLC | 10.004 | 0.0853 | | | |
| McM1 | 0.8527 | MLC | 10.004 | 0.0852 | | | |
| McM2 | 0.8481 | MLC | 10.005 | 0.0847 | | | |
| McM3 | 0.8436 | MLC | 10.004 | 0.0843 | | | |
| SM1 | 1.6391 | MLC | 10.000 | 0.1639 | | | |
| SM2 | 1.3046 | MLC | 10.002 | 0.1304 | | | |
| SM3 | 1.4131 | MLC | 10.001 | 0.1413 | | | |

MLC: menor al límite de cuantificación 0.25 ppm (estándar menor de la curva de calibración)

Fuente: Elaboración propia.

La concentración de cadmio en material vegetal de las tres marcas analizadas y para ambas especies vegetales “Manzanilla” y “Té Verde” no sobrepasan los límites establecidos por las normativas internacionales, por lo que se puede afirmar que todas las muestras cumplen. Con relación a los resultados obtenidos para las muestras de infusiones, estas presentan una concentración menor al límite de cuantificación 0.25 ppm que corresponde al estándar menor de cadmio. Por lo tanto, dichos niveles de concentración ya no son cuantificables.

Tabla N° 20. Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal

| n | Xi | (Xi-MED)^2 | ai | Xi INV | Dif(Xi - Xi INV) | Promedio Xi |
|----|--------|------------|--------|--------|------------------|-------------------------------------|
| 1 | 0.0030 | 0.0068 | 0.4886 | 0.1811 | -0.1780 | 0.0854 |
| 2 | 0.0034 | 0.0067 | 0.3253 | 0.1666 | -0.1632 | SUM(Xi-MED)^2 |
| 3 | 0.0039 | 0.0066 | 0.2553 | 0.1639 | -0.1600 | 0.0634 |
| 4 | 0.0202 | 0.0042 | 0.2027 | 0.1575 | -0.1373 | ai*Dif |
| 5 | 0.0251 | 0.0036 | 0.1587 | 0.1413 | -0.1162 | -0.2399 |
| 6 | 0.0301 | 0.0031 | 0.1197 | 0.1304 | -0.1003 | SW c |
| 7 | 0.0816 | 0.0000 | 0.0837 | 0.0889 | -0.0073 | 0.9078 |
| 8 | 0.0843 | 0.0000 | 0.0496 | 0.0853 | -0.0009 | SW t |
| 9 | 0.0847 | 0.0000 | 0.0163 | 0.0852 | -0.0005 | 0.8970 |
| 10 | 0.0852 | 0.0000 | | 0.0847 | | 0.9078 > 0.8970 = SW c > SW t |
| 11 | 0.0853 | 0.0000 | | 0.0843 | | |
| 12 | 0.0889 | 0.0000 | | 0.0816 | | |
| 13 | 0.1304 | 0.0020 | | 0.0301 | | |
| 14 | 0.1413 | 0.0031 | | 0.0251 | | |
| 15 | 0.1575 | 0.0052 | | 0.0202 | | |
| 16 | 0.1639 | 0.0062 | | 0.0039 | | |
| 17 | 0.1666 | 0.0066 | | 0.0034 | | |
| 18 | 0.1811 | 0.0092 | | 0.0030 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°20 muestra el análisis de datos correspondiente a la concentración de cadmio en material vegetal de “Manzanilla” y “Té verde” a través de la prueba de Shapiro-Wilk, con la finalidad de determinar el tipo de distribución

que tienen los datos. En base a los resultados obtenidos, como está reflejado en la tabla el valor de SWc “estadístico de prueba” es mayor que Swt “estadístico de tabla” por lo que se dice que los datos tienen una distribución normal y se debe aplicar un análisis de varianza ANOVA para evaluar sus diferencias estadísticamente significativas.

Tabla N° 21. Análisis de varianza para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Té verde

| Componentes | Suma de Cuadrados | GL | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre marcas | 0.04821 | 2 | 0.0241051 | 434.65 | 0.0000 |
| Intra marcas | 0.00033 | 6 | 0.0000554 | | |
| Total (Corr.) | 0.04854 | 8 | | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°21 muestra el análisis de varianza de un factor para la concentración de cadmio en material vegetal de “Té verde” en tres diferentes marcas, mostrando dos componentes; un componente entre marcas y un componente dentro de marcas. Dentro del análisis estadístico se observa que el valor obtenido para P es menor a 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto, se puede decir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de Cd entre una marca y otra, con un nivel del 95.0% de confianza. Se realizó a continuación la prueba estadística de Fisher (LSD) para reforzar el supuesto anterior.

Tabla N° 22. Análisis de diferencias significativas de Fisher (LSD) para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Té Verde

| Marcas | Casos | Media | Grupos Homogéneos | Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|--------|-------|--------|-------------------|------------|------|------------|-------------|
| McTv | 3 | 0.0034 | X | MTv - McTv | * | 0.164967 | 0.0148785 |
| STv | 3 | 0.0251 | X | MTv - STv | * | 0.143267 | 0.0148785 |
| MTv | 3 | 0.1684 | X | McTv - STv | * | -0.0217 | 0.0148785 |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°22 muestra el resultado del análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD), haciendo una comparación que permite determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. En la parte derecha de la tabla se realiza un contraste entre las muestras, el asterisco que se encuentra al lado de los tres pares de muestras indica que estos muestran diferencias estadísticamente significativas de la concentración de Cd; entre las marcas Mondaisa-Selectos, Mondaisa-McCormick y McCormick-Selectos con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte izquierda no se han identificado grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas, por lo tanto, si existen diferencias estadísticamente significativas entre sus medias.

Tabla N° 23. Análisis de varianza para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Manzanilla.

| Componentes | Suma de Cuadrados | GL | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre marcas | 0.0072485 | 2 | 0.00362425 | 35.59 | 0.0005 |
| Intra marcas | 0.0006109 | 6 | 0.00010183 | | |
| Total (Corr.) | 0.0078595 | 8 | | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°23 muestra el análisis de varianza de un factor para la concentración de cadmio en material vegetal de “Manzanilla” en tres diferentes marcas, mostrando dos componentes; un componente entre marcas y un componente dentro de marcas. Dentro del análisis estadístico se observa que el valor obtenido para P es menor a 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto, se puede decir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de Cd entre una marca y otra, con un nivel del 95.0% de confianza. Se realizó a continuación la prueba estadística de Fisher (LSD) para reforzar el supuesto anterior.

Tabla N° 24. Análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD) para la concentración de cadmio (Cd) en material vegetal de Manzanilla.

| Marcas | Casos | Media | Grupos Homogéneos | Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|--------|-------|--------|-------------------|-----------|------|------------|-------------|
| McM | 3 | 0.0847 | X | MM - McM | | 0.000533 | 0.0201612 |
| MM | 3 | 0.0852 | X | MM - SM | * | -0.059933 | 0.0201612 |
| SM | 3 | 0.1452 | X | McM - SM | * | -0.060466 | 0.0201612 |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°24 muestra el resultado del análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD), haciendo una comparación que permite determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. En la parte derecha de la tabla se realiza un contraste ente las muestras, el asterisco que se encuentra al lado de los dos pares de muestras indica que estos muestran diferencias estadísticamente significativas de la concentración de Cd; entre las marcas Mondaisa-Selectos y McCormick-Selectos con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte izquierda se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas, entre las marcas McCormick-Mondaisa las cuales no presentan diferencias estadísticamente significativas entre sus medias para la concentración de Cd en material vegetal de “Manzanilla”.

Discusión de la determinación de cadmio:

Los resultados en la prueba de ANOVA reflejan que para “Té verde” y “Manzanilla” existen diferencias estadísticamente significativas para la concentración de cadmio en el material vegetal de las marcas analizadas. Por lo que demuestra que el material vegetal utilizado por estas empresas tiene concentraciones diferentes de este metal y que se ha visto afectado por diversos factores como su proveniencia, técnicas agrícolas aplicadas y procesos de manufactura. La variación en las concentraciones metálicas en el material vegetal analizado podría atribuirse también a las diferencias en la

absorción de metales en las plantas y la tendencia que estos tienen a bioacumularse, aunque eso dependa de diversas causas como la especie de las plantas, su etapa de crecimiento, suelo, características geo ambientales, condiciones climáticas y actividades antropogénicas. A pesar de dichas diferencias estadísticas las marcas cumplen con las normativas internacionales (OMS, EMEA, Ph Eur) por lo que el consumo de cada una de ellas es seguro desde el punto de vista de este metal, independientemente del nivel de preferencia. Cabe mencionar que para las muestras de infusiones en ambos materiales vegetales y para todas las marcas seleccionadas, se obtuvieron resultados menores al límite de cuantificación (MLC) es decir que los niveles de cadmio podrían estar presentes en concentraciones menores al estándar más bajo establecido en la curva de calibración por lo cual ya no pueden ser medidos ya que se encuentran fuera de los límites especificados. Por lo tanto, no es posible asegurar la presencia o ausencia de cadmio en infusiones.

5.3.4 Resultados y discusión de la determinación de níquel

Tabla N° 25. Resultados de la determinación de níquel (Ni) en material vegetal (MV) en infusiones (Inf)

| Código de Muestra | Abs en MV | Abs en Inf | Peso de muestra | Concentración de Ni (ppm) | Limite según normativas internacionales | | |
|-------------------|-----------|------------|-----------------|---------------------------|---|----------|---------|
| | | | | | OMS | EMEA | Ph. Eur |
| MTv1 | 0.1397 | MLC | 10.005 | 1.3969 | 10.0 ppm | 20.0 ppm | - |
| MTv2 | 0.1305 | MLC | 10.001 | 1.3049 | | | |
| MTv3 | 0.1489 | MLC | 10.001 | 1.4889 | | | |
| McTv1 | 0.3693 | MLC | 10.003 | 3.6919 | | | |
| McTv2 | 0.2438 | MLC | 10.004 | 2.4370 | | | |
| McTv3 | 0.3065 | MLC | 10.004 | 3.0644 | | | |
| STv1 | 0.1060 | MLC | 10.002 | 1.0598 | | | |
| STv2 | 0.0724 | MLC | 10.002 | 0.7239 | | | |
| STv3 | 0.0892 | MLC | 10.005 | 0.8918 | | | |
| MM1 | 0.0999 | MLC | 10.001 | 0.9989 | | | |
| MM2 | 0.1183 | MLC | 10.004 | 1.1825 | | | |

Tabla N° 25. (Continuación)

| | | | | | | | |
|------|--------|-----|--------|--------|--|--|--|
| MM3 | 0.1275 | MLC | 10.004 | 1.2745 | | | |
| McM1 | 0.0631 | MLC | 10.004 | 0.6312 | | | |
| McM2 | 0.0693 | MLC | 10.005 | 0.6927 | | | |
| McM3 | 0.0570 | MLC | 10.004 | 0.5698 | | | |
| SM1 | 0.1550 | MLC | 10.000 | 1.5500 | | | |
| SM2 | 0.1489 | MLC | 10.002 | 1.4887 | | | |
| SM3 | 0.1489 | MLC | 10.001 | 1.4889 | | | |

MLC: menor al límite de cuantificación 0.20 ppm (estándar menor de la curva de calibración)

Fuente: Elaboración propia.

Las concentraciones de níquel para el material vegetal de las tres marcas analizadas y para ambas especies vegetales “Manzanilla” y “Té Verde” no sobrepasan los límites establecidos por las normativas internacionales, por lo que se puede afirmar que todas las muestras cumplen (ver Tabla N°25). Con relación a los resultados obtenidos para las muestras de infusiones, estas presentan una concentración menor al límite de cuantificación establecido de 0.20 ppm que corresponde al estándar menor de níquel. Por lo tanto, dichos niveles de concentración no son cuantificables.

Tabla N° 26. Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de níquel (Ni) en material vegetal

| n | Xi | (Xi-MED) ² | ai | Xi INV | Dif(Xi - Xi INV) | Promedio Xi |
|----|--------|-----------------------|--------|--------|------------------|--------------------------|
| 1 | 0.5698 | 0.7589 | 0.4886 | 3.6919 | -3.1221 | 1.4409 |
| 2 | 0.6312 | 0.6556 | 0.3253 | 3.0644 | -2.4332 | SUM(Xi-MED) ² |
| 3 | 0.6927 | 0.5599 | 0.2553 | 2.4370 | -1.7444 | 11.9593 |
| 4 | 0.7239 | 0.5142 | 0.2027 | 1.5500 | -0.8261 | ai*Dif |
| 5 | 0.8918 | 0.3015 | 0.1587 | 1.4889 | -0.5971 | -3.1302 |
| 6 | 0.9989 | 0.1954 | 0.1197 | 1.4889 | -0.4900 | SW c |
| 7 | 1.0598 | 0.1453 | 0.0837 | 1.4887 | -0.4289 | 0.8193 |
| 8 | 1.1825 | 0.0668 | 0.0496 | 1.3969 | -0.2144 | SW t |
| 9 | 1.2745 | 0.0277 | 0.0163 | 1.3049 | -0.0304 | 0.8970 |
| 10 | 1.3049 | 0.0185 | | 1.2745 | -3.1221 | 0.8193 < 0.8970 |
| 11 | 1.3969 | 0.0019 | | 1.1825 | | = |
| 12 | 1.4887 | 0.0023 | | 1.0598 | | SW c < SW t |
| 13 | 1.4889 | 0.0023 | | 0.9989 | | |

Tabla N° 26. (Continuación)

| | | | | | |
|----|--------|--------|--|--------|--|
| 14 | 1.4889 | 0.0023 | | 0.8918 | |
| 15 | 1.5500 | 0.0119 | | 0.7239 | |
| 16 | 2.4370 | 0.9922 | | 0.6927 | |
| 17 | 3.0644 | 2.6357 | | 0.6312 | |
| 18 | 3.6919 | 5.0669 | | 0.5698 | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°26 muestra el análisis de datos correspondiente a la concentración de níquel en material vegetal de “Manzanilla” y “Té verde” a través de la prueba de Shapiro-Wilk. Con la finalidad de determinar el tipo de distribución que tienen los datos. En base a los resultados obtenidos, como está reflejado en la tabla el valor de SWc “estadístico de prueba” es menor que Swt “estadístico de tabla” por lo que se dice que los datos tienen una distribución atípica o no paramétrica y se debe aplicar la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar sus diferencias estadísticamente significativas.

Tabla N° 27. Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de níquel (Ni) en material vegetal de Té verde.

| Marcas | Tamaño Muestra | Rango Promedio | Estadístico | Valor P |
|--------|----------------|----------------|-------------|-----------|
| MTv | 3 | 5.0 | 7.2 | 0.0273237 |
| McTv | 3 | 8.0 | | |
| STv | 3 | 2.0 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°27 muestra los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis, en la cual se evalúa la hipótesis de que las medianas de la concentración de Ni dentro de cada uno de los 3 niveles de marcas son iguales. Primero combina los datos de todas las marcas y se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada marca. Puesto que el valor de P es menor a 0.05, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, se dice que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de la concentración de Ni para material vegetal de “Té verde” entre una marca y otra con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla N° 28. Prueba de Kruskal-Wallis para la concentración de níquel (Ni) en material vegetal de Manzanilla.

| Marcas | Tamaño Muestra | Rango Promedio | Estadístico | Valor P |
|--------|----------------|----------------|-------------|-----------|
| MM | 3 | 5.0 | 7.2 | 0.0273237 |
| McM | 3 | 2.0 | | |
| SM | 3 | 8.0 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°28 muestra los resultados de la prueba de Kruskal-Wallis, en la cual se evalúa la hipótesis de que las medianas de la concentración de Ni dentro de cada uno de los 3 niveles de marcas son iguales. Primero combina los datos de todas las marcas y se calcula el rango (rank) promedio para los datos de cada marca. Puesto que el valor de P es menor a 0.05, se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto, se dice que existe una diferencia estadísticamente significativa entre las medianas de la concentración de Ni para material vegetal de “Manzanilla” entre una marca y otra, con un nivel del 95.0% de confianza.

Discusión de la determinación de níquel:

De acuerdo con los resultados en las pruebas Kruskal Wallis tanto para “Té verde” como para “Manzanilla” se determinó que existen diferencias estadísticamente significativas para la concentración de níquel en el material vegetal de las marcas analizadas. Por lo que demuestra que el material vegetal empleado por estas empresas tiene concentraciones diferentes de este metal y que se ha visto afectado por diversos factores como su proveniencia, técnicas agrícolas aplicadas y procesos de manufactura. Cabe recalcar que según la literatura el níquel es un metal pesado que se encuentra en niveles muy bajos a nivel ambiental por lo que la principal fuente de contaminación de este puede atribuirse principalmente a la actividad del ser humano dentro de los procesos industriales y agronómicos. A pesar de las diferencias estadísticas reflejadas, las marcas cumplen con las normativas internacionales (OMS, EMEA, Ph Eur) por lo que el consumo de ellas es seguro independientemente del nivel de

preferencia, desde el punto de vista de este metal. Cabe mencionar que para las muestras de infusiones en ambos materiales vegetales y para todas las marcas seleccionadas, se obtuvieron resultados menores al límite de cuantificación (MLC) es decir que los niveles de cadmio podrían estar presentes en concentraciones menores al estándar más bajo establecido en la curva de calibración por lo cual ya no pueden ser medidos ya que se encuentran fuera de los límites especificados. Por lo tanto, no es posible asegurar la presencia o ausencia de níquel en infusiones de “Manzanilla” y “Té verde”.

5.3.5 Resultados y discusión de la determinación de plomo

Tabla N° 29. Resultados de la determinación de plomo en material vegetal (Pb) en material vegetal (MV) e Infusiones (inf)

| Código de Muestra | Abs en MV | Abs en Inf | Peso de muestra MV | Concentración de Pb (ppm) en MV | Limite según normativas internacionales | | |
|-------------------|-----------|------------|--------------------|---------------------------------|---|---------|---------|
| | | | | | OMS | EMEA | Ph. Eur |
| MTv1 | 0.0212 | MLC | 10.005 | 0.2119 | 10.0 ppm | 0.5 ppm | 5.0 ppm |
| MTv2 | 0.0212 | MLC | 10.001 | 0.2120 | | | |
| MTv3 | 0.0212 | MLC | 10.001 | 0.2120 | | | |
| McTv1 | 0.0543 | MLC | 10.003 | 0.5428 | | | |
| McTv2 | 0.0874 | MLC | 10.004 | 0.8737 | | | |
| McTv3 | 0.0874 | MLC | 10.004 | 0.8737 | | | |
| STv1 | 0.0874 | MLC | 10.002 | 0.8738 | | | |
| STv2 | 0.0543 | MLC | 10.002 | 0.5429 | | | |
| STv3 | 0.1039 | MLC | 10.005 | 1.0385 | | | |
| MM1 | 0.1205 | MLC | 10.001 | 1.2049 | | | |
| MM2 | 0.1370 | MLC | 10.004 | 1.3695 | | | |
| MM3 | 0.1535 | MLC | 10.004 | 1.5344 | | | |
| McM1 | 0.1205 | MLC | 10.004 | 1.2045 | | | |
| McM2 | 0.1535 | MLC | 10.005 | 1.5342 | | | |
| McM3 | 0.1039 | MLC | 10.004 | 1.0386 | | | |
| SM1 | 0.0874 | MLC | 10.000 | 0.8740 | | | |
| SM2 | 0.1370 | MLC | 10.002 | 1.3697 | | | |
| SM3 | 0.0874 | MLC | 10.001 | 0.8739 | | | |

MLC: menor al límite de cuantificación 0.20 ppm (estándar menor de la curva de calibración)

Fuente: Elaboración propia.

La concentración de plomo para el material vegetal de las tres marcas analizadas y para ambas especies vegetales “Manzanilla” y “Té Verde” cumplen únicamente para las normativas OMS y Ph Eur. Sin embargo, todas las marcas y para ambas especies vegetales a excepción de Mondaisa “Té verde” (MTv) no cumplen con EMEA. Con relación a los resultados obtenidos para las muestras de infusiones, estas presentan una concentración menor al límite de cuantificación 0.20 ppm que corresponde al estándar menor de plomo. Por lo tanto, dichos niveles de concentración no son cuantificables.

Tabla N° 30. Prueba de Shapiro-Wilk para distribución de datos de la concentración de plomo (Pb) en material vegetal

| n | Xi | (Xi-MED)^2 | ai | Xi INV | Dif(Xi - Xi INV) | Promedio Xi |
|----|--------|------------|--------|--------|------------------|-----------------|
| 1 | 0.2119 | 0.4877 | 0.4886 | 1.5344 | -1.3225 | 0.91027 |
| 2 | 0.2120 | 0.4876 | 0.3253 | 1.5342 | -1.3223 | SUM(Xi-MED)^2 |
| 3 | 0.2120 | 0.4876 | 0.2553 | 1.3697 | -1.1577 | 3.1466 |
| 4 | 0.5428 | 0.1350 | 0.2027 | 1.3695 | -0.8266 | ai*Dif |
| 5 | 0.5429 | 0.1350 | 0.1587 | 1.2049 | -0.6620 | -1.7061 |
| 6 | 0.8737 | 0.0013 | 0.1197 | 1.2045 | -0.3309 | SW c |
| 7 | 0.8737 | 0.0013 | 0.0837 | 1.0386 | -0.1649 | 0.9250 |
| 8 | 0.8738 | 0.0013 | 0.0496 | 1.0385 | -0.1647 | SW t |
| 9 | 0.8739 | 0.0013 | 0.0163 | 0.8740 | -0.0001 | 0.8970 |
| 10 | 0.8740 | 0.0013 | | 0.8739 | | 0.9250 > 0.8970 |
| 11 | 1.0385 | 0.0164 | | 0.8738 | | = |
| 12 | 1.0386 | 0.0165 | | 0.8737 | | SW c > SW t |
| 13 | 1.2045 | 0.0866 | | 0.8737 | | |
| 14 | 1.2049 | 0.0868 | | 0.5429 | | |
| 15 | 1.3695 | 0.2108 | | 0.5428 | | |
| 16 | 1.3697 | 0.2111 | | 0.2120 | | |
| 17 | 1.5342 | 0.3893 | | 0.2120 | | |
| 18 | 1.5344 | 0.3895 | | 0.2119 | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°30 muestra el análisis de datos correspondiente a la concentración de plomo en material vegetal de “Manzanilla” y “Té verde” a través de la prueba de Shapiro-Wilk. Con la finalidad de determinar el tipo de distribución

estadística que tienen los datos. En base a los resultados obtenidos, como está reflejado en la tabla el valor de SWc “estadístico de prueba” es mayor que Swt “estadístico de tabla” por lo que se dice que los datos tienen una distribución normal y se debe aplicar un análisis de varianza ANOVA para evaluar sus diferencias significativas.

Tabla N° 31. Análisis de varianza para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Té verde.

| Componentes | Suma de Cuadrados | GL | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 0.674865 | 2 | 0.337433 | 10.10 | 0.0120 |
| Intra grupos | 0.20041 | 6 | 0.0334017 | | |
| Total (Corr.) | 0.875275 | 8 | | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°31 muestra el análisis de varianza de un factor para la concentración de plomo en material vegetal de “Té verde” en tres diferentes marcas, mostrando dos componentes; un componente entre marcas y un componente dentro de marcas. Dentro del análisis estadístico se observa que el valor obtenido para P es menor a 0.05 por lo que se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto, se puede decir que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de Pb entre una marca y otra, con un nivel del 95.0% de confianza. Se realizó a continuación la prueba estadística de Fisher (LSD) para reforzar el supuesto anterior.

Tabla N° 32. Análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD) para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Té verde

| Marcas | Casos | Media | Grupos Homogéneos | Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|--------|-------|---------|-------------------|------------|------|------------|-------------|
| MTv | 3 | 0.21196 | X | MTv - McTv | * | -0.551433 | 0.365139 |
| McTv | 3 | 0.7634 | X | MTv - STv | * | -0.606433 | 0.365139 |
| STv | 3 | 0.8184 | X | McTv - STv | | -0.055 | 0.365139 |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°32 muestra el resultado del análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD), haciendo una comparación que permite determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. En la parte derecha de la tabla se realiza un contraste entre las muestras, el asterisco que se encuentra al lado de los dos pares de muestras indica que estas muestran diferencias estadísticamente significativas de la concentración de Pb; entre las marcas Mondaisa-Selectos y Mondaisa-McCormick con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte izquierda se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas, entre las marcas McCormick-Selectos las cuales no presentan diferencias significativas entre sus medias para la concentración de Pb en material vegetal de té verde.

Tabla N° 33. Análisis de varianza para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Manzanilla.

| Componentes | Suma de Cuadrados | GL | Cuadrado Medio | Razón-F | Valor-P |
|---------------|-------------------|----|----------------|---------|---------|
| Entre grupos | 0.16973 | 2 | 0.0848652 | 1.47 | 0.3015 |
| Intra grupos | 0.345412 | 6 | 0.0575687 | | |
| Total (Corr.) | 0.515142 | 8 | | | |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°33 muestra el análisis de varianza de un factor para la concentración de plomo en material vegetal de "Manzanilla" en tres diferentes marcas, mostrando dos componentes; un componente entre marcas y un componente dentro marcas. Dentro del análisis estadístico se observa que el valor obtenido para P es mayor a 0.05 por lo que no se rechaza la hipótesis nula, por lo tanto, se puede decir que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la concentración de Pb entre una marca y otra, con un nivel del 95.0% de confianza. Se realizó a continuación la prueba estadística de Fisher (LSD) para reforzar el supuesto anterior.

Tabla N° 34. Análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD) para la concentración de plomo (Pb) en material vegetal de Manzanilla.

| Marcas | Casos | Media | Grupos Homogéneos | Contraste | Sig. | Diferencia | +/- Límites |
|--------|-------|--------|-------------------|-----------|------|------------|-------------|
| SM | 3 | 1.0392 | X | MM - McM | | 0.1105 | 0.479366 |
| McM | 3 | 1.2591 | X | MM - SM | | 0.3304 | 0.479366 |
| MM | 3 | 1.3696 | X | McM - SM | | 0.2199 | 0.479366 |

Fuente: Elaboración propia.

La tabla N°34 muestra el resultado del análisis de diferencia significativa de Fisher (LSD), haciendo una comparación que permite determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. En la parte derecha de la tabla se realiza un contraste entre las muestras, mostrando las diferencias entre cada par de medias y concluye en que no hay diferencias estadísticamente significativas de la concentración de Pb entre las marcas analizada; Mondaisa-Selectos-McCormick con un nivel del 95.0% de confianza. En la parte izquierda se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X en columnas entre las marcas Selectos-McCormick-Mondaisa lo cual demuestra que las marcas no presentan diferencias significativas entre sus medias para la concentración de Pb en material vegetal de “Manzanilla”.

Discusión de la determinación de plomo:

Con relación a la concentración de plomo en material vegetal de “Manzanilla” y “Té verde” todas las marcas cumplen con las normativas internaciones OMS y Ph Eur. Sin embargo, ninguna de las marcas y para ambas especies vegetales no cumplen con la normativa EMEA a excepción de la marca Mondaisa “Té verde”. Cabe recalcar que el límite de referencia descrito por la EMEA (0.5ppm) es referido a medicamentos y/o dosis orales permitidas. Tomando en cuenta que las concentraciones de plomo determinadas en el 83% de las muestras sobrepasan dicho valor y que la única marca que cumple corresponde a Mondaisa “Té verde”, esto ya representa un riesgo en la salud del consumidor.

Por lo que se hace énfasis en la necesidad de monitorear la presencia de este metal en las marcas analizadas en esta investigación, complementándose con otros análisis que permitan identificar las fuentes de contaminación y que tanto representaría el consumo de estas bebidas amenazas en la salud del ser humanos. Según los análisis estadísticos sobre las diferencias significativas entre las marcas, no se encuentran diferencias en “Manzanilla” pero si para “Té verde”, lo que demuestra que las materias primas utilizadas por las empresas se han visto afectadas por los procesos de manufactura, técnicas agrícolas aplicadas, lugares de proveniencia, la absorción de metales por parte de las especies vegetales, entre otras causas. Por lo tanto, no se recomienda el consumo de estas bebidas independientemente de las marcas de preferencia ya que no es seguro, desde el punto de vista de este metal. Cabe mencionar que para las muestras de infusiones en ambos materiales vegetales y para todas las marcas seleccionadas, se obtuvieron resultados menores al límite de cuantificación (MLC) es decir que los niveles de plomo podrían estar presentes en concentraciones menores al estándar más bajo establecido en la curva de calibración y que la cuantificación de estas concentraciones mínimas ya no pueden ser medidas ya que se encuentran fuera de los límites especificados. Por lo que no es posible asegurar la presencia o ausencia de plomo en infusiones de “Manzanilla” y “Té verde”.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. El análisis fitoquímico preliminar indicó la presencia de flavonoides, cumarinas y terpenoides para *Matricaria chamomilla* L.; y la presencia de cumarinas, taninos y terpenoides para *Camelia sinensis* (L.) Kuntze. Comprobando que las muestras analizadas en esta investigación si corresponden a las especies vegetales de “Manzanilla” y “Té verde”.
2. El porcentaje de humedad y el porcentaje de cenizas para cada una de las marcas analizadas de las especies vegetales de “Manzanilla y “Té Verde” se encuentran dentro del rango establecido por la OMS - Buenas Prácticas Agrícolas. Cabe mencionar que las marcas Mondaisa y Selectos para “Manzanilla”; Mondaisa, McCormick y Selectos para “Té verde” presentaron un porcentaje de cenizas cercano al valor de referencia oscilando entre 12.45 - 13.65%.
3. El material vegetal de “Manzanilla” y “Té Verde” presentaron concentraciones de arsénico (considerado como arsénico total) que no sobrepasan las normativas internacionales de referencia. Estadísticamente los valores determinados para ambas especies vegetales presentan un comportamiento no paramétrico y en base al análisis estadístico aplicado se determina que entre las marcas seleccionadas de “Manzanilla” y “Té verde” para la investigación no existen diferencias significativas entre ellas con respecto a la con concentración de arsénico.
4. El material vegetal de “Manzanilla” y “Té Verde” presentaron concentraciones de cadmio que no sobrepasan las normativas internacionales de referencia. Estadísticamente los valores determinados presentan un comportamiento

paramétrico y en base al análisis estadístico aplicado se determina que: para “Té verde” existen diferencias estadísticamente significativas en la concentración de cadmio entre las marcas McCormick-Selectos-Mondaisa; para “Manzanilla” hay homogeneidad en la concentración de cadmio para las marcas McCormick-Mondaisa y diferencias estadísticamente significativas entre las marcas Mondaisa-Selectos y McCormick-Selectos.

5. El material vegetal de “Manzanilla” y “Té Verde” presentaron concentraciones de níquel que no sobrepasan las normativas internacionales de referencia. Estadísticamente los valores determinados para ambas especies vegetales presentan un comportamiento no paramétrico y en base al análisis estadístico aplicado se determina que entre las marcas seleccionadas de “Manzanilla” y “Té verde” si hay diferencias estadísticamente significativas entre ellas con respecto a la concentración de níquel.
6. El material vegetal de “Manzanilla” y “Té Verde” presentaron concentraciones de plomo que no sobrepasan las normativas internacionales de referencia OMS y Ph Eur. Sin embargo, ninguna de las marcas y para ambas especies vegetales no cumplen con la normativa EMEA a excepción de la marca Mondaisa “Té verde”. Estadísticamente los valores determinados presentan un comportamiento paramétrico y en base al análisis estadístico aplicado se determina que: para “Té verde” hay homogeneidad en la concentración de plomo para las marcas McCormick-Selectos y diferencias estadísticamente significativas entre las marcas Mondaisa-McCormick y Mondaisa-Selectos; para “Manzanilla” hay homogeneidad entre las tres marcas seleccionadas Mondaisa-McCormick-Selectos.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

Para futuros estudios relacionados a esta investigación recomendamos:

1. Plantear un método de análisis con mayor sensibilidad que permita la detección y cuantificación de metales pesados en muestras de infusiones preparadas para así poder determinar si existe contaminación en este tipo de matrices.
2. Plantear un análisis de “ingestas diarias recomendadas” basadas en normativas Internacionales que permitan conocer si las bajas concentraciones de metales pesados que pueden encontrarse en este tipo de bebidas podrían representar riesgos apreciables para la salud del ser humano en el futuro.
3. En el área de control de calidad del sector alimenticio, analizar otros metales pesados que podrían estar presentes en este tipo de muestras y que representen riesgos para la salud del ser humano. De tal forma que se puedan sentar bases sobre la calidad de este tipo productos naturales que son comercializados en nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Agencia Europea de Medicamentos - EMEA (2019). ICH Harmonised guideline for elemental impurities Q3D(R1). Netherlands. [Online]. Disponible: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q3d-elemental-impurities>
2. Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades – ATSDR. (2005). *Resúmenes de salud pública, Níquel*. Estados Unidos. Disponible en: https://www.atsdr.cdc.gov/es/phs/es_phs15.html
3. Anoro López, S. (2010). *Tratamiento de muestra y determinación de cobre, manganeso, hierro y zinc en té y sus infusiones*. (Tesis de pregrado). Universidad de Zaragoza
4. Arce, L. A. (2011). Flora de Costa Rica I. Guía Práctica. San José, Costa Rica: Universidad Estatal a Distancia EUNED.
5. Azcona Cruz, M.I.; Vicente Flores, G.; et al. (2015). Efectos tóxicos del plomo. *Revista de Especialidades Médico - Quirúrgicas*. 20(1), 72 – 77.
6. Barillas Moreno, L. M.; Avalos Peraza, L. A. (2005). *Estudio de factibilidad para la industrialización de variedades de tés con propiedades especiales*. (Tesis de pregrado). Universidad Dr. José Matías Delgado. El Salvador
7. Bermejo, J. (2011). Identificación y síntesis de Metabolitos secundarios aislados de Plantas y Hongos de Canarias, Norte de África y Sudamérica. *Biocáncer*. España.
8. Bernardi, L.A. (2017). Perfil del Té. [Online]. Ministerio de Agroindustria de Argentina. [Online]. Disponible en: 010000_Perfil del Té.pdf (magyp.gob.ar)

9. Burlando, B. (2010). Principales hierbas en cosmética. Propiedades y mecanismo de acción. CRC Press. Florida, EE. UU. Páginas 109-111; 169-173.
10. Bruneton, J. (1993). Farmacognosia, Fitoquímica, Plantas Medicinales. (2a.Ed.) Zaragoza, España.
11. Cardet F, (2011). *Caracterización de la composición fenólica y capacidad antioxidante del té (Camellia sinensis) en productos de diferentes marcas comercializadas en Chile.* (Tesis de pregrado). Universidad de Chile. Chile.
12. Cruz, A. V. (2017). Estabilidad térmica y capacidad antioxidante de té verde incorporado en micropartículas de maltodextrina. (Tesis post grado). Centro de investigación en alimentos y desarrollo, A.C. Hermosillo, Sonora. México.
13. Carrión Jara, A.; García Gómez, C. (2010). *Preparación de extractos vegetales: Determinación de eficiencia de métodos.* (Tesis de pregrado). Universidad de Cuenca – Ecuador.
14. Defensoría del Consumidor. (2017). Monitoreo del consumo en El Salvador. San Salvador, El Salvador. Disponible en: <https://www.defensoria.gob.sv/wp-content/uploads/2017/12/monitoreo.pdf> dores de consumo.indd (defensoria.gob.sv)
15. Diaconu, D.; Diaconu, R.; Navrotescu, T. (2012). Estimation of heavy metals in medical plants and their infusion. Versita – Ovidius University *Annals of Chemistry.* 23(1), 115 – 120.
16. Domínguez, X.A. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica. México: Limusa.

17. Espinoza Domínguez, J.; Quispe Huilca, Y. (2016). *Determinación cuantitativa de arsénico, cadmio y plomo en maca (Lepidium meyenii) expendida en el mercado 10 de octubre durante el periodo de junio – octubre 2016*. (Tesis de pregrado). Universidad Norbert Wiener – Lima Perú.
18. Farmacopea Europea. (2008). *Fármacos a base de hierbas, monografía 0765*. (6ª. Edición). Estrasburgo, Francia.
19. Farmacopea Europea. (2008). *Fármacos a base de hierbas, monografía 1433*. (6ª. Edición). Estrasburgo, Francia.
20. Ferrer Dufol A. (2003) *Intoxicación por metales. ANALES del sistema sanitario de Navarra*. 26(1), 141 – 153 .
21. Foro Mundial de la Salud – Dr. Olayiwola Akerele (1993). *Medicina tradicional. Las plantas medicinales: un tesoro que no debemos desperdiciar*. (Volumen 14). Ginebra, Suiza.
22. Flores Amaya, K.C.; Rodríguez Lemus, B.L. (2017). *Análisis fitoquímico preliminar de los extractos orgánicos de Maytenus segoviarum, Quetzalia reynae y Zinowiewia integerrima de la familia celastraceae pertenecientes a la flora salvadoreña*. (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador.
23. Flores, E.F.; Alcántara, L.S.; Maldonado, R.D. (2020). *Control de calidad de las plantas medicinales de la farmacia natural del CAMEC – Hospital III Chimbote. Revista Peruana de Medicina Integrada*. 5(2), 68 – 79.
24. Flores Tensos, J.M.; Carranza Estrada F.; Bonilla de Torres, B.L. (2010). *Manual de laboratorio de análisis bromatológico*. Departamento de Química Agrícola, Universidad de El Salvador.

25. Fórum del café. *El té*. [Online]. Disponible en :
https://www.forumdelcafe.com/sites/default/files/biblioteca/el_te.pdf
26. García K. (2015). *Efecto antibacteriano de una infusión de Camellia sinensis (Té verde) usada como colutorio, sobre placa bacteriana y saliva*. (Tesis de pregrado). Universidad de Trujillo. Perú.
27. García, M. (2009). Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata L.*, *Matricaria recutita L.* y *Morinda citrifolia L.* *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 14(2). Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962009000200004&lng=es&tlng=es.
28. García, J. (1969). Estudio del *Rhamnus goudotiana*. (Tesis de pregrado). Universidad de Colombia, Colombia.
29. García, C.; Kim, N.; Bich, N. et. al. (2009). Metabolitos secundarios en los extractos secos de *Passiflora incarnata L.*, *Matricaria recutita L.* y *Morinda citrifolia L.* *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 14(2) 1-7.
30. Germosen, L. (2005). *Farmacopea Vegetal Caribeña*. Segunda Edición, editorial Universitaria UNAN-León. Santo Domingo, República Dominicana. Páginas 280-283.
31. González, E. (2003). El Efecto quimio protector del té y sus compuestos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 53 (2). 111-118. Disponible en:
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S000406222003000200001&lng=es&tlng=es.
32. Guerra Corado, A. (2005). *Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los extractos fluidos, blandos y secos, así como las tinturas del rizoma y de la fronda de Calahuala (Phlebodium*

pseudoaureum) a nivel de laboratorio. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala.

33. Gutiérrez Peña, L. V.; Carrero, P. E.; Yelitza J. P.; et al. (2014). Desarrollo de un método analítico para la determinación de selenio en huevos fortificados de gallinas (Isa Brown) por espectroscopia de absorción atómica con generación de hidruros. *Revista del Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel*, 45(2), 30-49.
34. Hernández, B. (2017). *Evaluación del contenido de cadmio en infusiones de Manzanilla preparadas a partir de tisanas comercializadas en Costa Rica*. (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica
35. Hernández Mancía, S.; Morataya Gonzáles, M. (2017). *Análisis fitoquímico y determinación de metales pesados, minerales y oligoelementos, en plantas medicinales comercializadas en el mercado central de san salvador*. (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador.
36. Hernandez, T.; García, A.; Serrano, R. et. al. (2015). Fitoquímica y actividades biológicas de plantas de importancia en la medicina tradicional del valle de tehuacán-cuicatlán. *Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, 18(2),116-121.
37. Hina, B.; Rizwani, G.; Naseem, S. (2011). Determination of toxic metals in some herbal drugs through atomic absorption spectroscopy. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*. 24(3), 353 – 358.
38. Huguet Tapia, R. (2014). *Determinación cuantitativa de metales pesados en cinco especies vegetales en bolsas filtrantes para infusiones expendidas en Lima Metropolitana – 2013*. (Tesis de postgrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú.

39. JMGAV (2013). Espectroscopia atómica III: En el laboratorio. Triplenlace. Disponible en: <https://triplenlace.com/2013/01/03/espectroscopiaatomica-iii-en-el-laboratorio/>
40. Lahcene, Z. (2007). Sesquiterpenlactonas y otros constituyentes de *Matricaria chamomilla* L. *Bioquímica sistemática y ecología*. Volumen 35. España. Páginas 533 - 538. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2007.03.008>.
41. Lecina Sayas, J. (2011). *Espectroscopía de absorción atómica para la determinación de elementos presentes en té instantáneo*. (Tesis de pregrado). Universidad de Zaragoza.
42. López Giral, N. (2011). *Obtención y aplicación de extractos naturales*. Centro Nacional de Tecnología y Seguridad Alimentaria (CNTA), España
43. Lock, O. (1994). Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. (2a. Ed.) Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú.
44. Mancebo, B. ; Sánchez, L. ; Aires, W. et. al. (2014). Tamizaje fitoquímico de extractos metanólicos de *Tephrosia vogelii* Hook, *Chenopodium ambrosoides*, *Cajanus cajan* y *Solanum nigrum* L. de la provincia de Huambo, Angola. *Revista de Salud de Anim.* 36(3), 164-169.
45. Martínez, M.L.; Núñez, M.J.; Toledo, R.A; Santamaría de Campos, A.M.; Guardado Castillo, U. O. (2020). *Manual de Farmacognosia, Ciclo I / 2020*. Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica, Sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesionales. Universidad de El Salvador.
46. Medina-Pizzali, M.; Robles, P.; Mendoza, M.; Torres, C. (2018). Ingesta de arsénico: el impacto en la alimentación y la salud humana. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública.* 35(1), 93 – 102.

47. Melo, M. (2020). Comparación de la composición y de la actividad antioxidante del aceite esencial de Manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) obtenido mediante extracción con fluidos supercríticos y otras técnicas verdes. Programa de Ingeniería Agroindustrial, de la Facultad de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad de Nariño, en Pasto, Nariño, Colombia. Disponible en: <https://doi.org/10.18257/raccefyn.862>
48. Méndez Rivas, M.C.; Ramírez Mendoza, J.L. (2006) *Determinación de la actividad antimicrobiana del extracto diclorometánico de la goma de resina de Eucalyptus citriodora* ("Eucalipto"). (Tesis de pregrado), Universidad de El Salvador.
49. Ministerio de la protección social. (2008). Vademecum colombiano de plantas medicinales. Imprenta Nacional de Colombia. Departamento de Farmacia, unidad de asesoría de servicios y extensiones. Facultad de Ciencias, Universidad de Colombia. Páginas 186-187.
50. Murga, F.M.; Quispe Huisa, L. (2018). *Determinación de arsénico, cadmio y plomo en especias en polvo: ají paprika (Capsicum annuum L.), ají panca (Capsicum chinense), pimienta (Piper nigrum) y comino (Cuminum cyminum), expendidos en el mercado Caquetá-San Martín de Porres, Lima en el periodo Enero – 2018*. (Tesis de pregrado), Universidad Norbert Wiener – Lima Perú.
51. Navarro Aviñó, J.P.; Aguilar Alonso, I.; López Moya, J.R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. *Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente*, Ecosistemas 16(2), 10 – 25.
52. Olivares Arias, V.; Valverde Som, L.; et al. (2015). Níquel en alimentos y factores influyentes en sus niveles, ingesta, biodisponibilidad y toxicidad. *CyTA - Journal of Food*. 13(1), 87 – 101.

53. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura – FAO, Oficina Regional para América Latina y el Caribe (2012). *Manual de buenas prácticas agrícolas para el productor hortofrutícola* (2° Edición). Santiago de Chile.
54. Organización Internacional del Trabajo (1998). *Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo* (4° Edición). Tomo II, Parte IX – Productos Químicos. España: Profesora Jeanne Stellman directora de la publicación. Disponible en: <https://www.insst.es/tomo-ii>
55. Organización Mundial de la Salud – OMS (2003). *Directrices de la OMS sobre buenas prácticas agrícolas y de recolección (BPAR) de plantas medicinales*. Ginebra, Suiza.
56. Organización Mundial de la Salud – OMS (2010). *Preventing disease through healthy environments. Exposure to lead: A major public health concern*. Ginebra, Suiza.
57. Organización Mundial de la Salud – OMS (2011). *Quality control methods for herbal materials*. Ginebra, Suiza.
58. Organización Mundial de la Salud – OMS (2007). *Directrices para la evaluación de calidad de los medicamentos a base de hierbas con referencia a los contaminantes y residuos*. Ginebra, Suiza.
59. Organización Mundial de la Salud – OMS (2005). *Directrices para la evaluación de calidad de los medicamentos a base de hierbas con referencia a los contaminantes y residuos*. Ginebra, Suiza.
60. Organización Mundial de la Salud – OMS (1999). *Monografía de la OMS sobre plantas medicinales seleccionadas*. (volumen 1). Ginebra, Suiza.

61. Organización Mundial de la Salud – OMS (2013). *Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014 – 2023*. Ginebra, Suiza.
62. *Official Methods of Analysis*. A.O.A.C. (1980). *Association of Official Analytical Chemists*. (13^a Edition). E.U.A
63. Padilla, E (2015). *Formulación y control de calidad de un enjuague bucal elaborado a partir de los extractos totales de Matricaria recutita L. (“Manzanilla”) y de Salvia officinalis L. (“Salvia”)*. (Tesis de pregrado). Universidad Central del Ecuador - Quito.
64. Padilla, K. (2019). *Efecto antibacteriano de una infusión de Camellia sinensis (té verde) usada como colutorio, sobre placa bacteriana y saliva*. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional de Trujillo. Perú Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2047>
65. Pajević, S., Arsenov, D., Nikolić, N. et al. (2018). Heavy metal accumulation in vegetable species and health risk assessment in Serbia. *Environ Monit Assess* 190, 459.1 – 14. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10661-018-6743-y>
66. Palacios, M. (2019). *Efecto Antibacteriano del extracto hidroalcohólico de hojas secas de Camellia sinensis L. (té verde) en cultivos de Cutibacterium acnes (Acné Vulgaris), in vitro*. (Tesis de pregrado). Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Perú.
67. Payo, A.; Oquendo, M. y Oviedo, R. (1996). Tamizaje fitoquímico preliminar de plantas que crecen en Holguin. *Revista Cubana de Farmacia*, 30(2). 274-289
68. Pérez García, P.E.; Azcona Cruz, M.I. (2012). Los efectos del Cadmio en la salud. *Revista de especialidades médico – quirúrgicas*. 17(3), 199 – 205.

69. Pineda Magaña, G.J.; Rivera Sánchez, E.D. (2016) *Determinación del análisis bromatológico proximal y minerales en pupusas a base de Zea mays (maíz) comercializadas dentro y en los alrededores del Campus Central de la Universidad de El Salvador*. (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador.
70. Pineda, C. (2013). *Recopilación de información científica de treinta y una plantas medicinales utilizadas en la fabricación de productos naturales y elaboración de un herbario*. (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador. El Salvador.
71. Procesos y métodos oficiales de análisis. A.O.A.C. (1980). Asociación de Químicos Analíticos Oficiales. (Edición 13a). E.U.A
72. Pineda Cornejo, C.A; Pinto Cisneros, A.Y. (2013). Recopilación de información científica de treinta y una plantas medicinales utilizadas en la fabricación de productos naturales y elaboración de un herbario. (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador.
73. Programa Mundial de Alimentos de las Naciones Unidas (PMA), Servicio Mundial de Análisis de la Seguridad Alimentaria. (2009). *Manual para la evaluación de la seguridad alimentaria en emergencias* (2° Edición). Roma, Italia.
74. Ramírez A. (2002). Toxicología del cadmio. Conceptos actuales para evaluar la exposición ambiental u ocupacional con indicadores biológicos. *Anales de la Facultad de Medicina*. 63(1), 51 – 64.
75. Ramírez Augusto V. (2013) Exposición ocupacional y ambiental al arsénico. *Anales de la Facultad de Medicina*. 74(3), 237 – 247.
76. Ramírez, L. (2016). Determinación de compuestos fenólicos (Catequinas, cafeína, ácidos orgánicos) en té verde (*Camellia sinensis*) usando

cromatografía líquida de alta resolución. *Vitae* 23 (Supl. 1) Universidad de Antioquía. Colombia.

77. Slowing Barillas K. (2010). Estudio cualitativo y efecto farmacológico de sus componentes en *Camellia sinensis*. Departamento Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. *Ars Pharm*; 51. Suplemento 3: 209-218
78. Resolución de la Procuraduría para la Defensa de los Derechos Humanos, San Salvador, 7 de junio 2007. EXP. LL-0050-05 [Online] Disponible en: Microsoft Word - ResoluciónfinalRecord 11 junio 2007.doc (pddh.gob.sv)
79. Reyes, Y.C. et al (2016). Contaminación por metales pesados: Implicaciones en salud, medio ambiente y seguridad alimentaria. *Revista Ingeniería, Investigación y Desarrollo*. 16(2), 66 – 77.
80. Rodríguez, A.; Cuéllar Luna L.; et al. (2016). Efectos nocivos del plomo para la salud del hombre. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 35(3), 251 – 271.
81. Salam, S. (2016). Análisis fitoquímico y evaluación del efecto anticonvulsivo del extracto de flor de manzanilla en pollitos. Departamento de Patología y microbiología. Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Duhok, región de Kurdistán. Iraq. Disponible en: <https://doi.org/10.17656/jzs.10583>.
82. Santayana, M. (2006). Manzanillas ibéricas: historia y uso tradicional. *Revista de Fitoterapia* 6(2): 143-153. Facultad de Ciencias. Universidad autónoma de Madrid. España.

83. Sharapin Nicolai. (2000). Fundamento de tecnología de productos Fitoterapéuticos. Colombia.
84. Shimadzu Corporation. *Atomic absorption spectrophotometry cookbook*.
85. Skoog, D.A.; Holler, F.J.; Crouch S.R. (2008). *Principios de análisis instrumental* (6° edición). México: Cengage Learning Editores.
86. Soberón, J. R.; Sampietro, D.A.; Vattuone, M.A. (2010). Cromatografía: Conceptos y Aplicaciones. *Revista Arakuku*. 2(1), 1 – 6.
87. Soria N, Ramos. P. (2015). Uso de plantas medicinales en atención primaria de Salud en Paraguay; algunas consideraciones para su uso seguro y eficaz. *Memorias del instituto de investigaciones en ciencias de la salud*. 13(2). 8 – 17.
88. Suárez Sola, M.L.; Gonzáles Delgado, f.J. et al. (2004). Análisis, diagnóstico y tratamiento de las intoxicaciones arsenicales. *Cuadernos de Medicina Forense*. 35(1), 5 – 14.
89. Tapia, G. B. (2009). Comparación de las propiedades bioquímicas y fisiológica del té (*Camellia sinensis*) de Caranavi y Chimate a partir de su composición bioquímica. (Tesis de pregrado). Universidad Mayor de San Andrés, La Paz-Bolivia.
90. Tejeda, K. (2009). Análisis de los principales activos en *Caléndula officinalis* y *Camellia sinensis*. (Tesis de pregrado). Instituto Politécnico Nacional de México.
91. Tropicos.org. Missouri Botanical Garden. Disponible en: <https://tropicos.org>

92. Valenzuela, B. (2004). El consumo de té y la salud: Características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. *Revista chilena de nutrición*, 31(2), 72-82. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182004000200001>
93. Waksmundzka, M., Sherma, J., Kowalska, T. (2008). Thin layer chromatography in phytochemistry, chromatographic science series (Vol.99). Florida: CRC Press, Taylor & Francis Group.

ANEXOS

ANEXO N° 1

FORMATO DE ENCUESTA - FORMULARIO DE GOOGLE



Sección 1 de 3

Encuesta para el trabajo de graduación titulado: Análisis Fitoquímico y Determinación de Metales Pesados en Material Vegetal e Infusiones de "Manzanilla" (*Matricaria chamomilla* L.) y "Té Verde" (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze).



Objetivo: Identificar las tres marcas de infusiones que prefieren los estudiantes de 4to año de la cátedra de Farmacognosia y 5to año de la cátedra de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Sección 2 de 3

DATOS PERSONALES



Descripción (opcional)

Sexo: *

Femenino

Masculino

Edad: *

Texto de respuesta breve

Año académico que cursa actualmente: *

Texto de respuesta breve

CONTENIDO



Descripción (opcional)

¿Consumes infusiones de "Manzanilla" (Matricaria chamomilla) y "Té Verde" (Camellia sinensis)? *

- Sí
- No

¿Con qué frecuencia consumes infusiones de "Manzanilla" y "Té Verde"? *

- Tres veces a la semana
- Dos veces a la semana
- Una vez a la semana
- Diariamente
- Otra...

¿En qué momento del día acostumbra a consumir las infusiones? *

Mañana

Mediodía/Tarde

Noche

¿Cuáles son las marcas que prefiere? (Puede escoger más de una) *

Bigelow

Celestial

MC Cormick

Mondaisa

Supremo

Selectos

Royal King

Otra...

¿Conoce las propiedades medicinales de las infusiones que consume? *

Sí

No

¿Considera usted que éstas bebidas aportan algún beneficio a la salud? *

Sí

No

Figura N° 18. Captura de pantalla de la encuesta digital – formulario de Google

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 2
UBICACIÓN GEOGRÁFICA DEL SUPERMERCADO DONDE SE
REALIZÓ EL MUESTREO

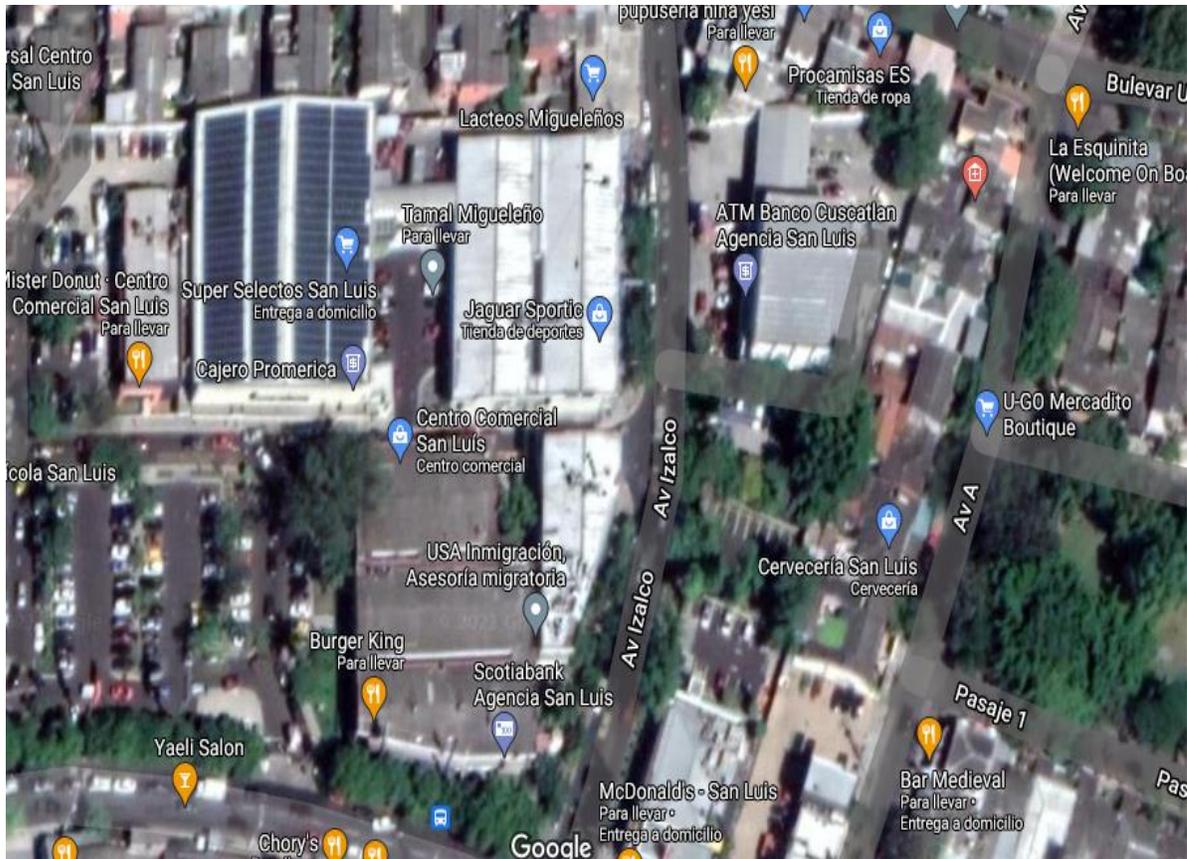


Figura N° 17. Mapa satelital de la ubicación geográfica del sitio de muestreo.

ANEXO N° 3

MUESTREO DE MATERIAL VEGETAL E INFUSIONES PARA EL ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

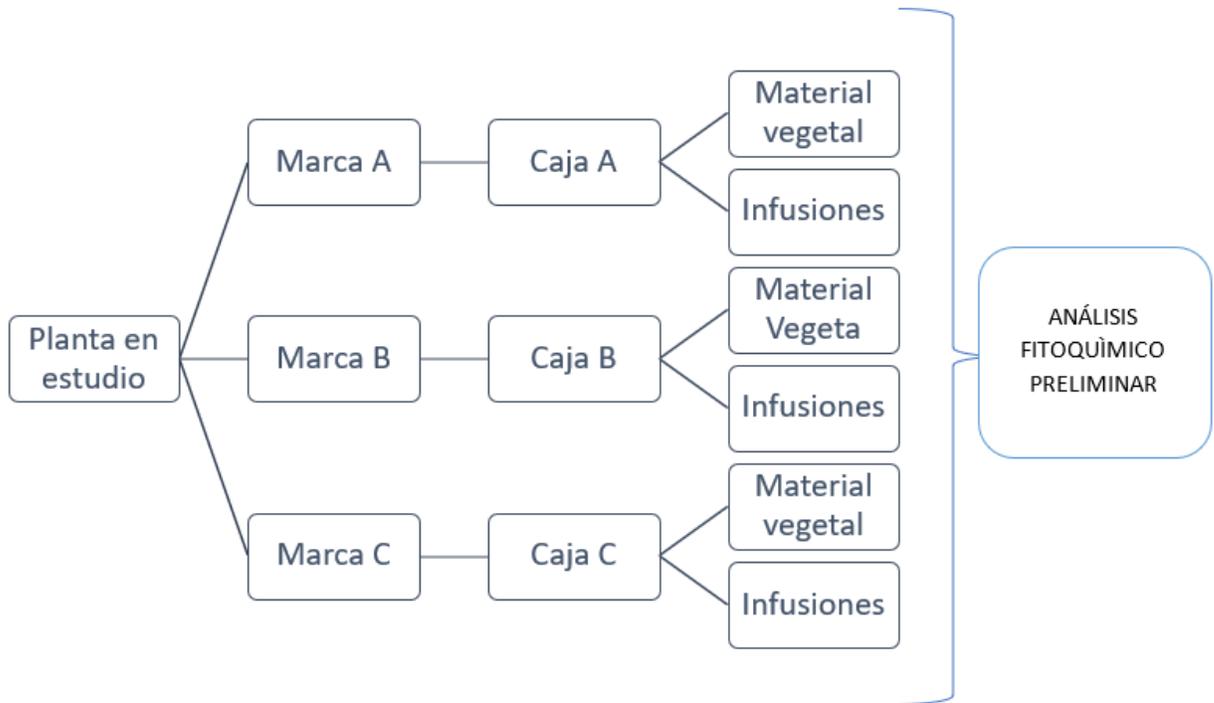


Figura N° 19. Esquema para selección de material vegetal e infusiones para el análisis fitoquímico preliminar.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 4

MUESTREO DE MATERIAL VEGETAL PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

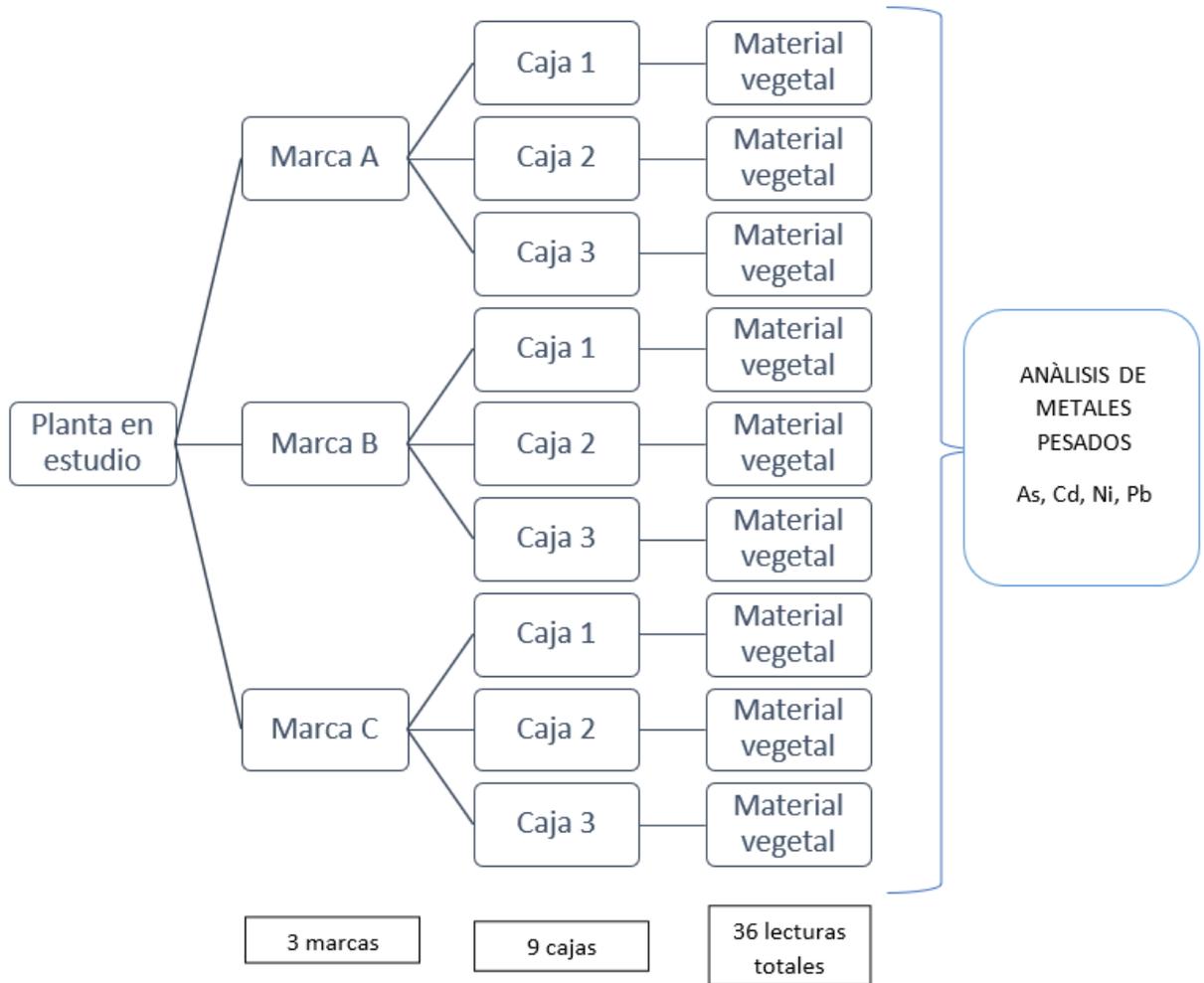


Figura Nº 20. Esquema de muestreo de material vegetal para la determinación de metales pesados.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 5

MUESTREO DE INFUSIONES PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

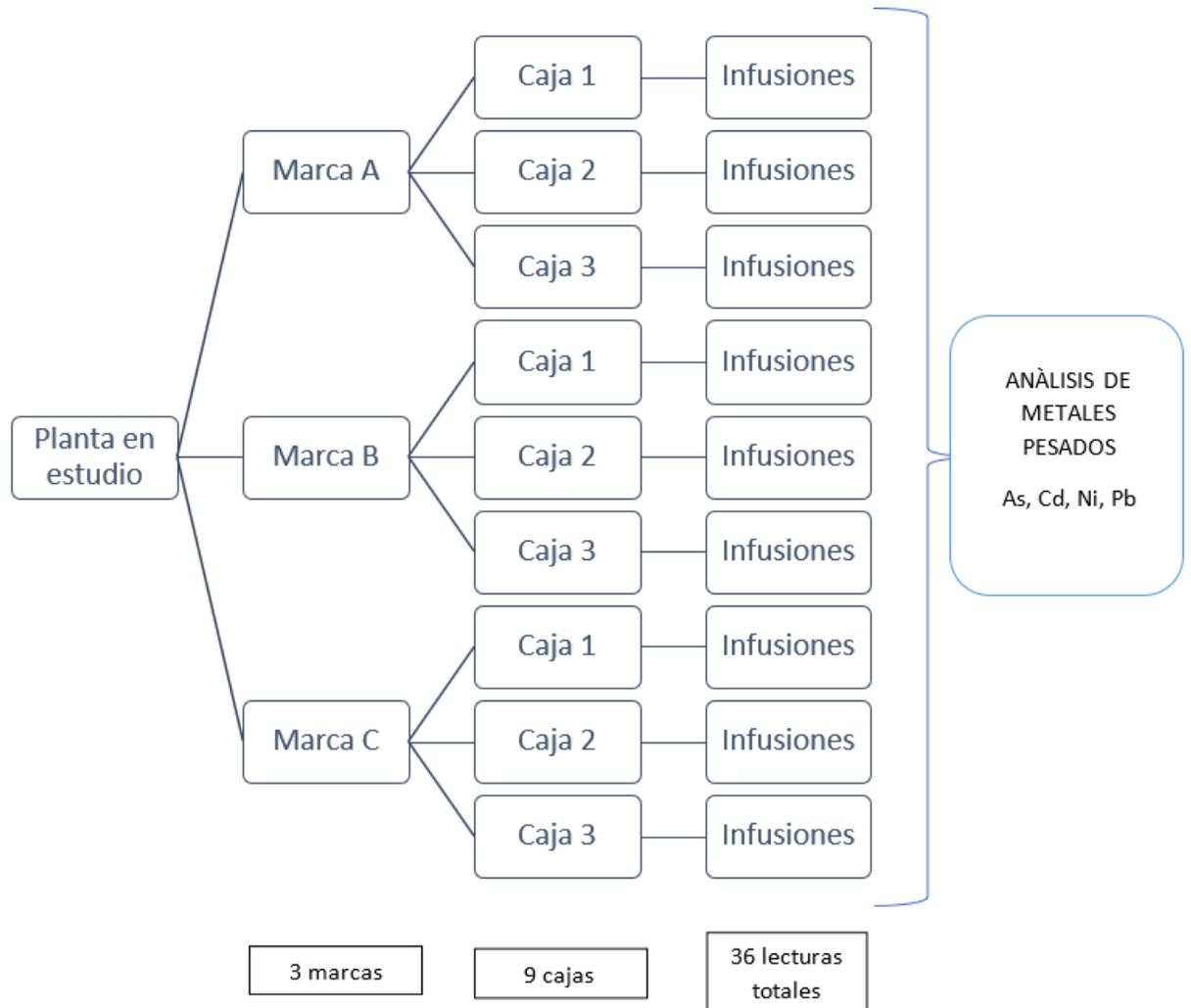
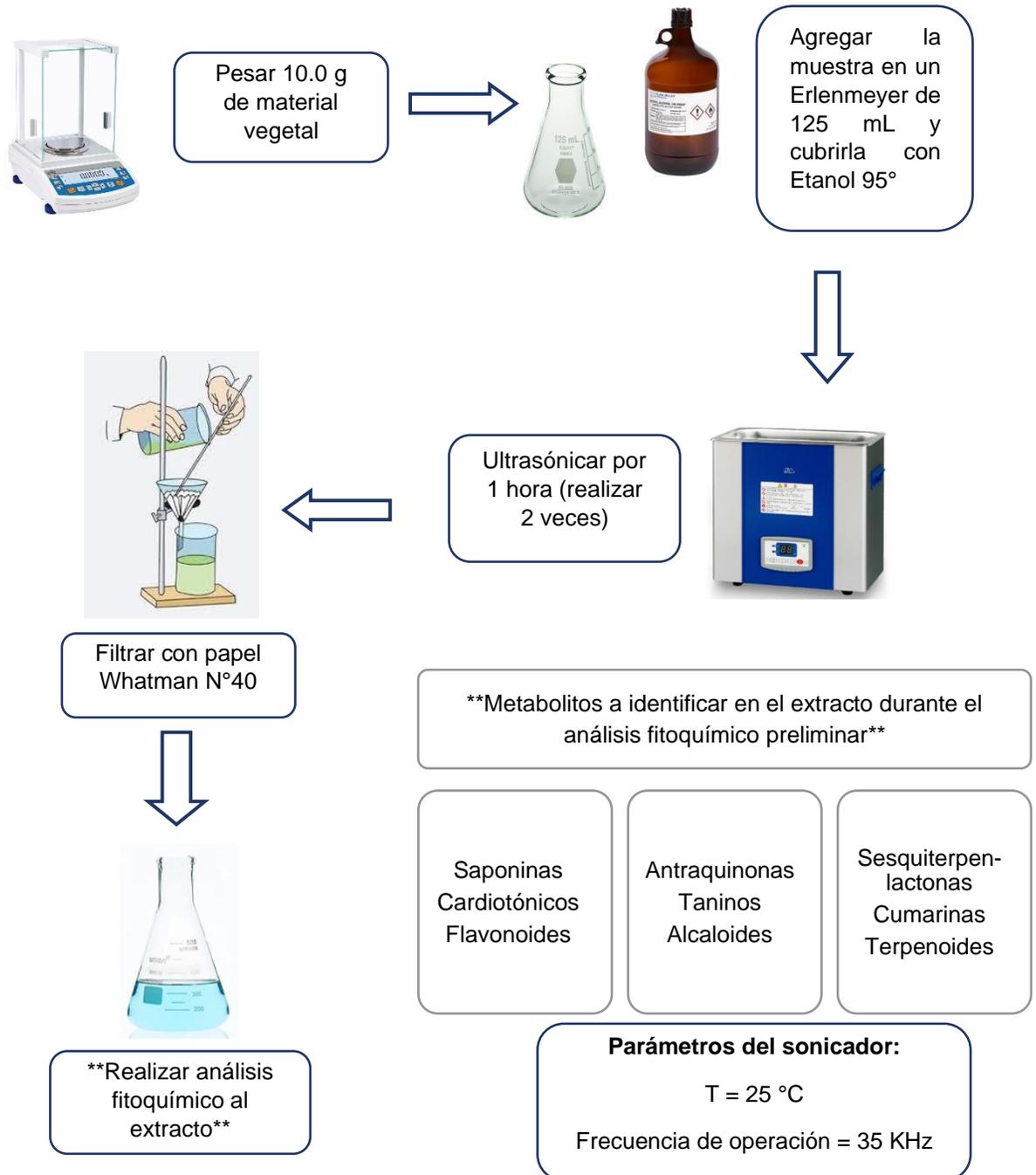


Figura Nº 21. Esquema de muestreo y análisis de infusiones para la determinación de metales pesados.

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 6

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N°7. EXTRACCIÓN ASISTIDA POR ULTRASONIDO



1. Pesar 10.0g de Material vegetal, fraccionado y molido



2. Adicionar ETOH 95° hasta cubrir la muestra



3. Ultrasónicas por una hora



4. Filtrar el extracto etanólico

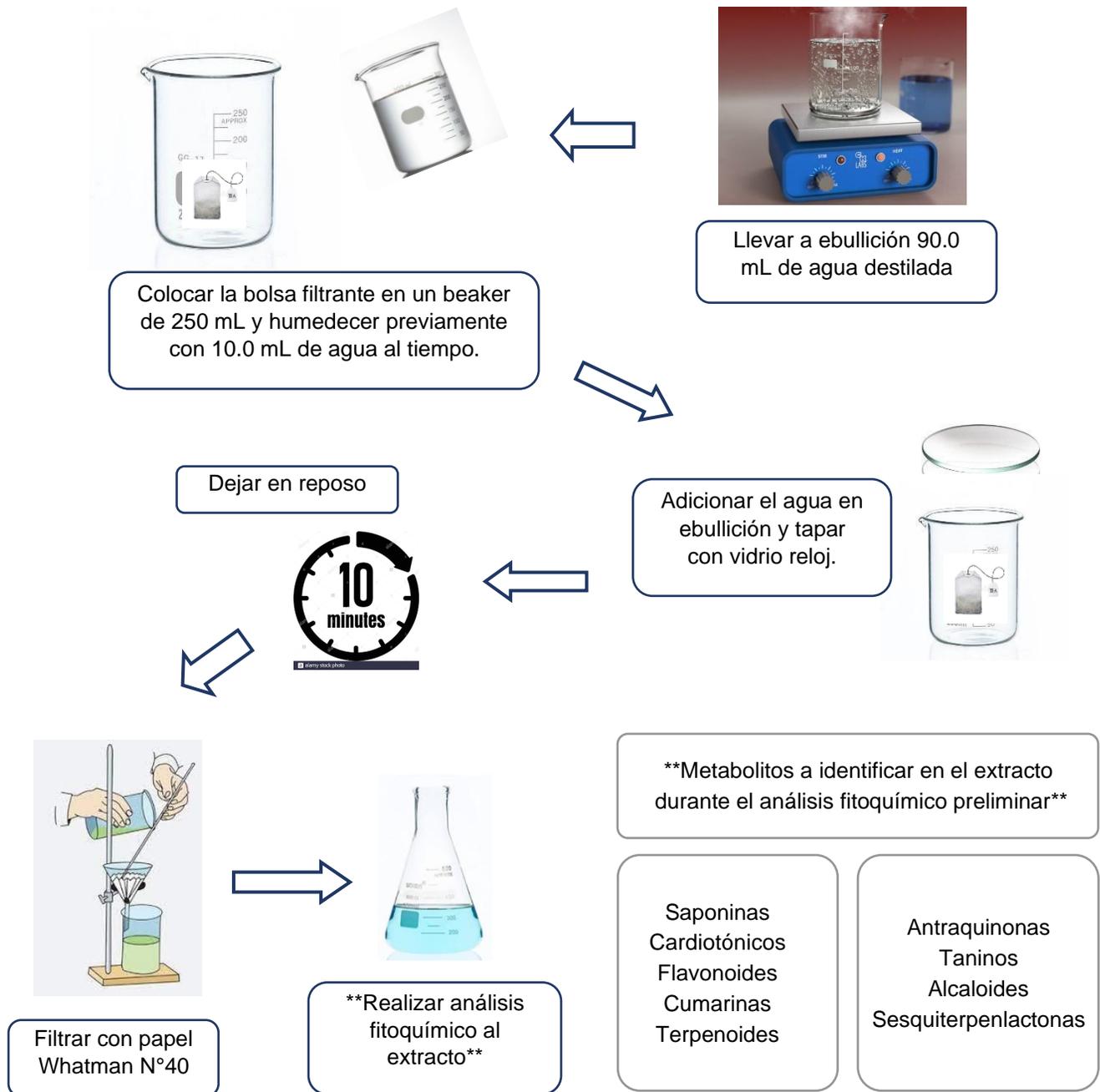


5. Rotular y almacenar los extractos

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 8

PROCEDIMIENTO DE EXTRACCIÓN POR METODO DE INFUSIÓN



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 9. EXTRACCIÓN POR METODO DE INFUSIÓN



1. Colocar una bolsa de infusión en beaker de 250mL



2. Añadir 90.0mL de agua en ebullición



3. Dejar reposar por 10 minutos, luego retirar la bolsa de infusión

4. Rotular y almacenar los extractos



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 10. ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR



1. Marcar las placas cromatográficas



2. Aplicar de 5-10 μ L de cada extracto en la placa



3. Introducir la placa dentro de la cámara cromatográfica saturada



4. Dejar que la fase móvil eluya $\frac{3}{4}$ partes de la placa y retirar de la cámara



5. Proceder a revelar las placas con los respectivos agentes reveladores de cada metabolito a identificar

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 11

PROCESO GENERAL PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

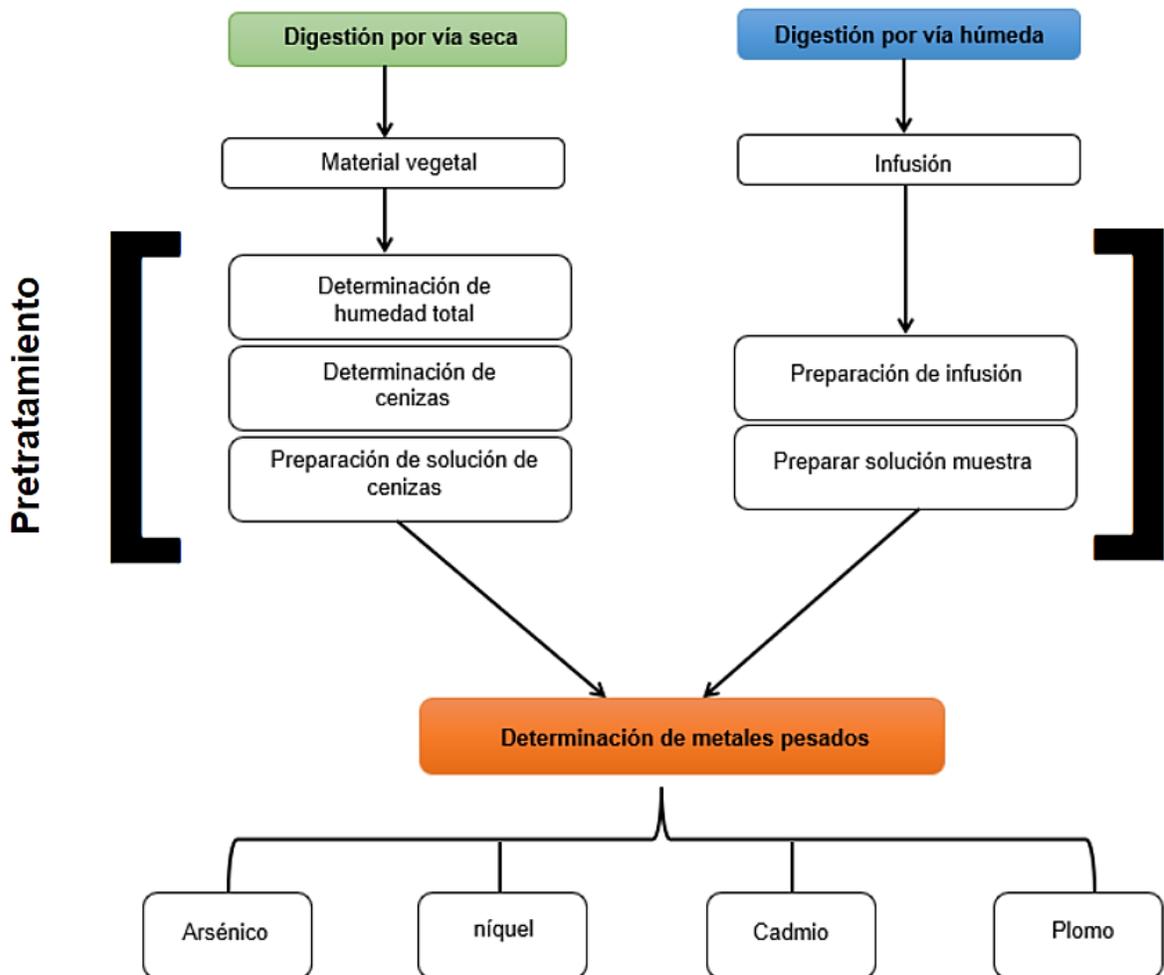


Figura Nº 22. Esquema general para la determinación de metales pesados

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 12 . DETERMINACIÓN DE HUMEDAD TOTAL



1. Calentar a 105°C las cajas de aluminio durante un período de 2 horas. Enfrir un desecador durante 30 minutos y pesarlas.



2. Pesar 20.0g de Material Vegetal en las cajas de aluminio



3. Colocar destapada la caja de aluminio con la Mx durante 5 horas, a presión de 100 mg de Hg



4. Retirar de la estufa, tapar y enfriar por 30min



5. Pesar las cajas y calcular el % de humedad

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 13. DETERMINACIÓN DE CENIZAS Y SOLUCIÓN DE CENIZAS



1. Calentar el crisol a 500°C por 2 horas



2. Pesar el crisol vacío y luego pesar 10g de Mx en cada crisol



3. Colocar el crisol + Mx a incinerar durante 2 horas



4. Controlar T° y tiempo hasta que se encuentre blanco, indica ausencia de carbono



5. Colocar en desecador 30 min y pesar



6. Humedecer la ceniza, agregar 5.0mL de HCl y 20.0mL de agua bidestilada



8. Filtrar por gravedad, realizar lavados y aforar con agua bidestilada



7. Evaporar líquido hasta la mitad a 100°C, luego retirar y enfriar

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 14. DIGESTIÓN DE MUESTRAS LIQUIDAS



1. Tomar 100.0 mL de Mx en beaker de 250.0mL



2. Agregar HCl concentrado y 10 mL de HNO_3



3. Llevar a ebullición por 10 minutos



4. Filtrar y recibir en balón volumétrico de 100.0mL



5. Aforar con agua bidestilada

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 15

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES STOCK PARA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

Preparación de Solución Stock (100 ppb) para Arsénico a partir de una solución madre de 1000 ppm

- Tomar una alícuota de 10.0 mL de la solución madre de 1000 ppm (1,000,000 ppb) de arsénico, con una pipeta volumétrica de 10.0 mL.
- Transferir la alícuota a un balón volumétrico de 1000 mL (estándar intermedio).
- Aforar con agua bidestilada, homogeneizar y rotular (estándar intermedio)
- Tomar una alícuota de 2.5 mL del estándar intermedio.
- Transferir la alícuota a un balón de 250.0 mL.
- Aforar con agua bidestilada.
- Homogeneizar y rotular.

Preparación de Solución Stock (100 ppm) para Cadmio, Níquel y Plomo a partir de una solución madre de 1000 ppm para cada metal pesado.

- Tomar una alícuota 10.0 mL de la solución madre de 1000 ppm de cadmio, con una pipeta volumétrica de 10.0 mL.
- Transferir la alícuota a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Aforar con agua bidestilada.
- Homogeneizar y rotular.

NOTA: repetir el mismo procedimiento para la preparación de la Solución Stock (100 ppm) para Níquel (Ni) y Plomo (Pb) a partir de una solución madre de 1000 ppm para cada metal pesado.

ANEXO Nº 16
PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ESTANDAR PARA
DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

Preparación de soluciones estándar (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, y 5.0 ppm) de arsénico (As) partiendo de una solución Stock de 100 ppb

- Medir 0.25, 0.50, 1.0, 1.5 y 2.5 mL de la solución stock de As (100 ppb) con una micropipeta de 1.0 mL para las primera tres alícuotas; y con una micropipeta de 5.0 mL para las últimas dos alícuotas.
- Transferir las alícuotas tomadas a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- A cada balón añadir 4.0 mL de HCL (1+1) y 2.0 mL de KI.
- Llevar a cabo una digestión a ± 85.0 °C durante 30 minutos, teniendo cuidado de que no ebulle.
- Enfriar la solución.
- Aforar con agua bidestilada y homogeneizar.

Preparación de soluciones estándar (0.25, 0.5, 1.0, 1.5 y 2.0 ppm) de cadmio (Cd) partiendo de una solución Stock de 100 ppm

- Medir 0.25, 0.50, 1.0, 1.5 y 2.0 mL de la solución stock de Cd (100 ppm) con una micropipeta de 1.0 mL para las primera tres alícuotas; y con una micropipeta de 5.0 mL para las últimas dos alícuotas.
- Transferir las alícuotas tomadas a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Colocar aproximadamente 25.0 mL de agua bidestilada a cada uno de los balones volumétricos y adicionar 5.0 mL de ácido clorhídrico calidad AA.
- Aforar con agua bidestilada y homogeneizar.

Preparación de soluciones estándar (0.20, 0.5, 1.0, 3.0 y 5.0 ppm) de níquel (Ni) partiendo de una solución Stock de 100 ppm

- Medir 0.20, 0.5, 1.0, 3.0 y 5.0 mL de la solución stock de Ni (100 ppm) con una micropipeta de 1.0 mL para las primera tres alícuotas; y con una micropipeta de 5.0 mL para las últimas dos alícuotas.
- Transferir las alícuotas tomadas a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Colocar aproximadamente 25.0 mL de agua bidestilada a cada uno de los balones volumétricos y adicionar 5.0 mL de ácido clorhídrico calidad AA.
- Aforar con agua bidestilada y homogeneizar.

Preparación de soluciones estándar (0.20, 0.5, 1.0, 3.0 y 5.0 ppm) de plomo (Pb) partiendo de una solución Stock de 100 ppm

- Medir 0.50, 1.25, 2.50, 7.50 y 12.50 mL de la solución stock de Pb (100 ppm) con una micropipeta de 1.0 mL; micropipeta de 5.0 mL y micropipeta de 10.0 mL para cada una de las alícuotas correspondientes.
- Transferir las alícuotas tomadas a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Colocar aproximadamente 25.0 mL de agua bidestilada a cada uno de los balones volumétricos y adicionar 5.0 mL de ácido clorhídrico calidad AA.
- Aforar con agua bidestilada y homogeneizar.

ANEXO Nº 17

**PLANTEAMIENTO DE CÁLCULOS PARA LA PREPARACIÓN DE
SOLUCIÓN STOCK Y LAS SOLUCIONES ESTÁNDAR DE
ARSÉNICO, CADMIO, NÍQUEL Y PLOMO**

Planteamiento de cálculos para la preparación de 250.0 mL de solución stock (100 ppb) de Arsénico a partir de una solución madre de 1000 ppm

NOTA: la preparación de esta solución stock, conlleva la elaboración de un estándar intermedio (literal a). Luego, se parte de este estándar intermedio para obtener la solución Stock final (literal b).

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

a. Dónde:

C₁: concentración inicial (1000 ppm = 1,000,000 ppb solución madre)

C₂: concentración final (en este caso es la concentración del estándar intermedio)

V₂: volumen final (volumen final del estándar intermedio)

V₁: alícuota a tomar de la solución madre de 1000 ppm de As

$$V_1 = \frac{10,000 \text{ ppb} * 1,000 \text{ mL}}{1,000,000 \text{ ppb}} = 10.0 \text{ mL (alícuota de la solución madre)}$$

Estándar intermedio: Volumen: 1000.0 mL y una Concentración: 10,000 ppb

b. Dónde:

C₁: concentración inicial (10,000 ppb del estándar intermedio)

C₂: concentración final (100 ppb de la solución stock)

V₂: volumen final (250.0 mL de la solución stock)

V₁: alícuota a tomar del estándar intermedio de 10,000 ppb de As

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppb} * 250 \text{ mL}}{10,000 \text{ ppb}} = 2.5 \text{ mL (alícuota del estándar intermedio)}$$

Planteamiento de cálculos para la preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración a partir de la solución Stock de 100 ppb de Arsénico (As)

Ejemplo para el estándar 0.5 ppb de As.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

Dónde:

C₁: concentración inicial (100 ppb de la solución stock)

C₂: concentración final (0.5 ppb de As)

V₂: volumen final (50.0 mL, volumen que deseamos preparar)

V₁: alícuota a tomar de la solución stock de As

$$V_1 = \frac{0.5 \text{ ppb} * 50 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 0.25 \text{ mL}(\text{solución stock})$$

para el estándar 1.0 ppb de As.

$$V_1 = \frac{1.0 \text{ ppb} * 50 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 0.50 \text{ mL}(\text{solución stock})$$

para el estándar 2.0 ppb de As.

$$V_1 = \frac{2.0 \text{ ppb} * 50 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 1.00 \text{ mL}(\text{solución stock})$$

para el estándar 3.0 ppb de As.

$$V_1 = \frac{3.0 \text{ ppb} * 50 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 1.50 \text{ mL}(\text{solución stock})$$

para el estándar 5.0 ppb de As.

$$V_1 = \frac{5.0 \text{ ppb} * 50 \text{ mL}}{100 \text{ ppb}} = 2.50 \text{ mL}(\text{solución stock})$$

Planteamiento de cálculos para la preparación de 100.0 mL de solución stock (100 ppm) de Cadmio, Níquel y Plomo a partir de una solución madre de 1000 ppm para cada metal pesado.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

Dónde:

C₁: concentración inicial (1000 ppm de la solución madre)

C₂: concentración final (100 ppm de la solución stock)

V₂: volumen final (100.0 mL de la solución stock)

V₁: alícuota a tomar de la solución madre de 1000 ppm de Cd/Ni/Pb

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{1,000 \text{ ppm}} = 10.0 \text{ mL (alícuota de la solución madre)}$$

NOTA: se aplica el mismo planteamiento para el cálculo de la preparación de la solución stock de Níquel (Ni) y Plomo (Pb).

Planteamiento de cálculos para la preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración de Cadmio (Cd) a partir de una solución Stock de 100 ppm.

Ejemplo para estándar 0.25 ppm de Cd.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

Dónde:

C₁: concentración inicial (100 ppm de la solución stock)

C₂: concentración final (0.25 ppm de Cd)

V₂: volumen final (100.0 mL, volumen que deseamos preparar)

V₁: alícuota a tomar del stock de Cd

$$V_1 = \frac{0.25 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0.25 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 0.50 ppm de Cd.

$$V_1 = \frac{0.50 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0.50 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 1.00 ppm de Cd.

$$V_1 = \frac{1.00 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1.00 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 1.50 ppm de Cd.

$$V_1 = \frac{1.50 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1.50 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 2.00 ppm de Cd.

$$V_1 = \frac{2.00 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 2.00 \text{ mL (solución stock)}$$

Planteamiento de cálculos para la preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración de Níquel (Ni) a partir de una solución Stock de 100 ppm.

Ejemplo para estándar 0.20 ppm de Ni.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

Dónde:

C₁: concentración inicial (100 ppm de la solución stock)

C₂: concentración final (0.20 ppm de Ni)

V₂: volumen final (100.0 mL, volumen que deseamos preparar)

V₁: alícuota a tomar del stock de Ni

$$V_1 = \frac{0.20 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0.20 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 0.50 ppm de Ni.

$$V_1 = \frac{0.50 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0.50 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 1.00 ppm de Ni.

$$V_1 = \frac{1.00 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1.00 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 3.00 ppm de Ni.

$$V_1 = \frac{3.00 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 3.00 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 5.00 ppm de Ni.

$$V_1 = \frac{5.00 \text{ ppm} * 100 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 5.00 \text{ mL (solución stock)}$$

Planteamiento de cálculos para la preparación de las soluciones estándar para la curva de calibración de Plomo (Pb) a partir de una solución Stock de 100 ppm.

Ejemplo para estándar 0.20 ppm de Pb.

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \rightarrow V_1 = (C_2 V_2) / C_1$$

Dónde:

C₁: concentración inicial (100 ppm de la solución stock)

C₂: concentración final (0.20 ppm de Pb)

V₂: volumen final (250.0 mL, volumen que deseamos preparar)

V₁: alícuota a tomar del stock de Pb

$$V_1 = \frac{0.20 \text{ ppm} * 250 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 0.50 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 0.50 ppm de Pb.

$$V_1 = \frac{0.50 \text{ ppm} * 250 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 1.25 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 1.00 ppm de Pb.

$$V_1 = \frac{1.00 \text{ ppm} * 250 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 2.50 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 3.00 ppm de Pb.

$$V_1 = \frac{3.00 \text{ ppm} * 250 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 7.50 \text{ mL (solución stock)}$$

para estándar 5.00 ppm de Pb.

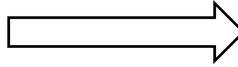
$$V_1 = \frac{5.00 \text{ ppm} * 250 \text{ mL}}{100 \text{ ppm}} = 12.50 \text{ mL (solución stock)}$$

ANEXO N° 18

ESQUEMA GENERAL PARA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS



Preparar muestras de acuerdo con el metal pesado a determinar



Tomar alícuotas en tubos de ensayo tanto de estándares como muestras y cargar el carrete del equipo



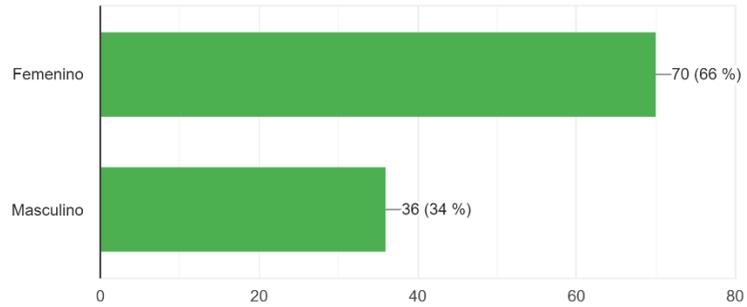
Leer en el equipo de absorción atómica ya sea por el método de llama o generador de hidruros, según corresponda

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 19
RESULTADOS DE LA ENCUESTA

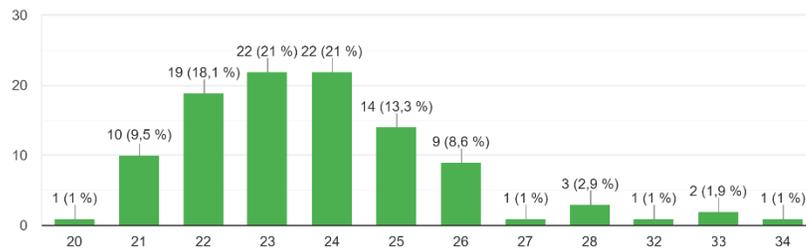
Sexo:

106 respuestas



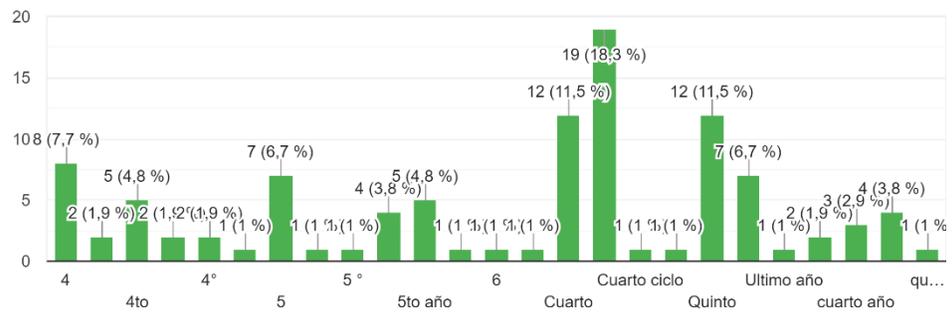
Edad:

105 respuestas



Año académico que cursa actualmente:

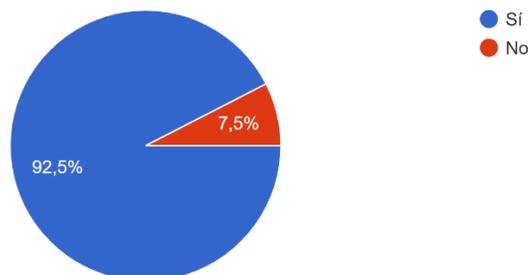
104 respuestas



Fuente: Elaboración propia.

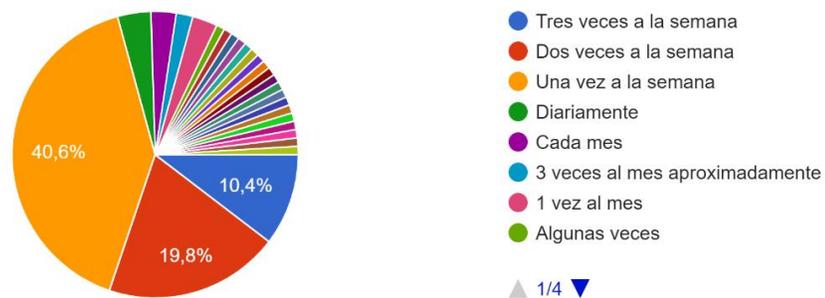
¿Consume infusiones de "Manzanilla" (Matricaria chamomilla) y "Té Verde" (Camellia sinensis)?

106 respuestas



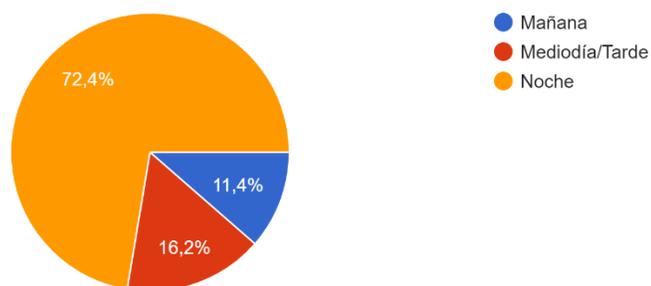
¿Con qué frecuencia consume infusiones de "Manzanilla" y "Té Verde"?

106 respuestas



¿En qué momento del día acostumbra a consumir las infusiones?

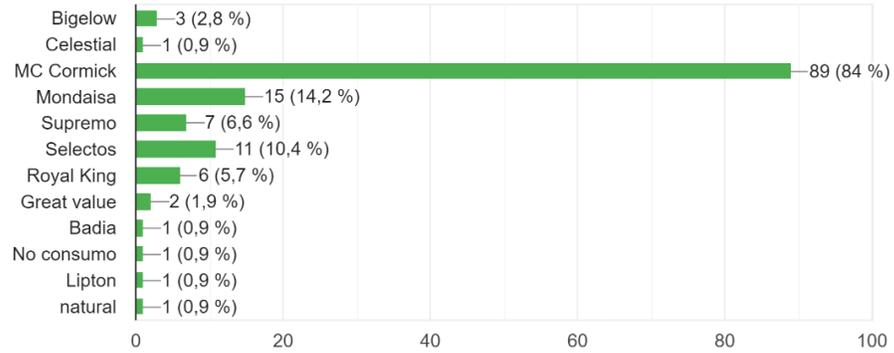
105 respuestas



Fuente: Elaboración propia.

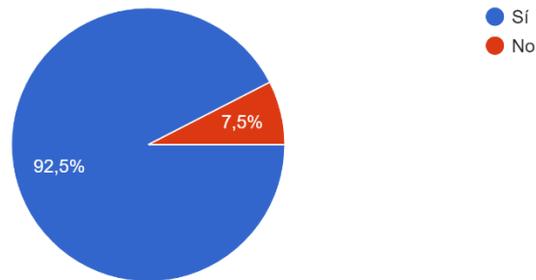
¿Cuáles son las marcas que prefiere? (Puede escoger más de una)

106 respuestas



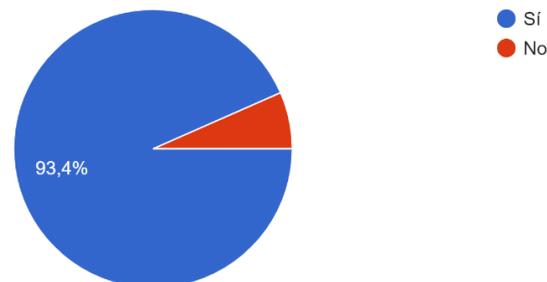
¿Conoce las propiedades medicinales de las infusiones que consume?

106 respuestas



¿Considera usted que éstas bebidas aportan algún beneficio a la salud?

106 respuestas



Fuente: Elaboración propia.

ANEXO Nº 20
PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA ANÁLISIS FITOQUÍMICO
PRELIMINAR

Preparación de reactivo revelador, Komarowski

Solución "A" Ácido Sulfúrico 50% (50 mL):

- Medir 5.0 mL de agua con una probeta.
- Transferir el volumen anterior a un beaker de 100 mL (Beaker "A")
- Medir 26.0 mL de ácido sulfúrico concentrado (96%) con una pipeta volumétrica de 25.0 mL y verterlos lentamente en el beaker "A".
- Dejar enfriar y una vez frío transferir la solución a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "A" con 5.0 mL de agua y recibirlos en el balón.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con agua y homogeneizar nuevamente.

Solución "B" (100 mL):

- Pesar 2.0 g de 4-hidroxibenzaldehído en un beaker de 100.0 mL (Beaker "B")
- Agregar 70.0 mL de metanol y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "B" con 10.0 mL de metanol y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con metanol y homogeneizar nuevamente.

Revelador de Komarowski (Preparar al momento de utilizar):

- Medir 2.5 mL de la solución "A" y mezclarlos con 25.0 mL de la solución "B".
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Kedde

Kedde "A" (50 mL):

- Pesar 1.0 g de ácido 3,5 dinitrobenzoico en un beaker de 50.0 mL (beaker "A").
- Agregar 30.0 mL de metanol al beaker "A" y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido del beaker "A" a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Realizar lavado al beaker "A" con 5.0 mL de metanol y recibirlos en un balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con metanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Kedde "B" (50.0 mL):

- Pesar 2.85 g de hidróxido de potasio en un beaker de 50.0 mL (beaker "B").
- Agregar 30.0 mL de metanol al beaker "B" y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido del beaker "B" a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "B" con 5.0 mL de metanol y recibirlos en un balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con metanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Tricloruro de Aluminio 1% en metanol (100 mL)

- Pesar 1.0 g de tricloruro de aluminio en un beaker de 100.0 mL (beaker "TA")
- Agregar 70.0 mL de metanol y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido del beaker "TA" a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "TA" con 10.0 mL de metanol y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con metanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Tricloruro de Hierro 1% en metanol (100 mL)

- Pesar 1.0 g de tricloruro de hierro en un beaker de 100.0 mL (beaker "TH")
- Agregar 70.0 mL de metanol y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido del beaker "TH" a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "TH" con 10.0 mL de metanol y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con metanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Baljet

Solución "A" (50 mL):

- Pesar 1.0g de ácido pícrico en un beaker de 50.0 mL (beaker "A").
- Agregar 30.0 mL de etanol 90° al beaker "A" y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido del beaker "A" a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "A" con 5.0 mL de etanol 90° y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con etanol 90° y homogeneizar nuevamente.

Solución "B" (50 mL):

- Pesar 5.0 g de hidróxido de sodio en un beaker de 50.0 mL (beaker "B").
- Agregar 30.0 mL de agua al beaker "B" y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido del beaker "B" a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "B" con 5.0 mL de agua y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con agua y homogeneizar nuevamente.

Revelador de Baljet

- Mezclar volúmenes iguales de solución "A" y "B".
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Vainillina (50 mL)

Solución "A" Ácido sulfúrico 5% en etanol (50 mL)

- Medir 2.6 mL de ácido sulfúrico concentrado (96%) en una probeta de 10 mL
- Transferir el volumen anterior a un beaker de 50.0 mL (beaker "A")
- Agregar 10.0 mL de etanol al beaker "A"
- Realizar dos lavados a la probeta con 5.0mL de etanol y recibirlos en el beaker "A".
- Dejar enfriar y una vez frio transferir la solución a un balón volumétrico de 50.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "A" con 10.0 mL de etanol y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con etanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Solución "B" Vainillina 1% en etanol (100mL)

- Pesar 1.0 g de vainillina en un beaker de 100.0 mL (beaker "V")
- Agregar 70.0 mL de etanol y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "V" con 10.0 mL de etanol y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con etanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Hidróxido de potasio al 5% en metanol (100 mL)

- Pesar 5.0 g de hidróxido de potasio en un beaker de 100.0 mL (beaker "HK")
- Agregar 10.0 mL de metanol al beaker "HK" y agitar hasta disolver.
- Transferir el contenido a un balón volumétrico de 100.0 mL.
- Realizar dos lavados al beaker "HK" con 10.0 mL de metanol y recibirlos en el balón volumétrico.
- Agitar el balón para homogeneizar.
- Aforar con metanol y homogeneizar nuevamente.
- Envasar y rotular.

Preparación de reactivo revelador, Dragendorff

Solución "A" (50 mL):

- Pesar 12.5 g de ácido tartárico en un beaker de 100.0 mL (beaker "A").
- Pesar 1.0625 g de nitrato de bismuto en un beaker de 10.0 mL.
- Adicionar 50.0 mL de agua al beaker "A" y agitar hasta disolver.
- Incorporar los 1.0625 g de nitrato de bismuto al beaker "A" y agitar hasta disolver.
- Envasar y rotular

Solución "B" (50 mL):

- Pesar 20.0 g de yoduro de potasio en un beaker de 100.0 mL (beaker "B").
- Agregar 50.0 mL de agua al beaker "B" y agitar hasta disolver.
- Envasar y rotular.

Solución de reserva AB

- Mezclar volúmenes iguales de la solución "A" y "B". Almacenar en refrigeración.

Revelador de Dragendorff (Preparar al momento de utilizar)

- Pesar 10.0 g de ácido tartárico en un beaker de 100.0 mL (beaker "C").
- Agregar 50.0 mL de agua al beaker "C" y agitar hasta disolver.
- Adicionar 5.0 mL de la solución de reserva "AB"
- Envasar y rotular.

ANEXO Nº 21

PREPARACIÓN DE REACTIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE METALES PESADOS

Preparación de Borohidruro de sodio (NaBH_4) 0.5 % p/v

- Disolver 2.5 gramos de NaBH_4 en 500 mL de NaOH 0.1 M.
- NOTA: Se debe preparar en cada determinación.

Preparación de Ácido clorhídrico (HCl) 1 + 1

- Mezclar en cantidades iguales agua bidestilada y HCl concentrado.

Por ejemplo, para preparar 500 mL de HCl 1 +1: medir en una probeta 250 mL de ácido clorhídrico concentrado y 250 mL de agua bidestilada. Incorporando primero el agua en el recipiente que contendrá la solución y luego el ácido, por las paredes del recipiente. .

Preparación de Solución de KI (200 g/L)

- Disolver 200.0 gramos de KI en agua.
- Transferir a un balón de 100.0 mL
- Aforar con agua bidestilada y homogeneizar
- NOTA: Se debe preparar en cada determinación.

ANEXO Nº 22

**BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTÍFICO SOBRE LOS
RESULTADOS OBTENIDOS EN ESTE TRABAJO DE
INVESTIGACIÓN**

Análisis Fitoquímico y Determinación de Metales Pesados en Material Vegetal e Infusiones de “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té Verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

Phytochemical Analysis and Determination of Heavy Metals in Plant Material and Infusions of "Chamomile" (*Matricaria chamomilla* L.) and "Green Tea" (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze)

Grande Velasco, Edgard Josué.; Flores Peña, Sandra Verónica.
Universidad de El Salvador. Facultad de Química y Farmacia. Octubre 2022

RESUMEN

La investigación se realizó sobre tres marcas de infusiones de “Manzanilla” y “Té verde” que son comercializadas en El Salvador, con la finalidad de determinar si existe contaminación por metales pesados en material vegetal e infusiones preparadas y la identificación fitoquímica preliminar correspondiente a cada especie vegetal. La determinación de metales pesados se llevó a cabo por medio de Espectroscopia de Absorción Atómica por el método de Llama (Cd, Ni, Pb) y Generador de Hidruros (As). Ante lo cual se obtuvieron resultados favorables para los metales pesado As, Cd y Ni ya que para ambas especies vegetales y para las tres marcas analizadas, sus materiales vegetales cumplen con los límites establecidos por las normativas internacionales OMS, EMEA y Ph Eur. Caso contrario para Pb donde las muestras analizadas cumplen con las normativas OMS y Ph Eur, pero sobrepasan los límites establecidos por la EMEA a excepción de la marca Mondaisa “Té verde”. Las determinaciones de metales pesados correspondientes a infusiones no fueron cuantificables ya que todas las muestras presentan niveles menores al límite de cuantificación establecido en cada caso. Los datos obtenidos fueron procesados estadísticamente en Prueba de Shapiro-Wilk y luego aplicando análisis de ANOVA o Prueba Kruskal-Wallis. El desarrollo práctico de la investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas y en el Laboratorio de Investigación de Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia.

Palabras clave: Metales pesados, Análisis fitoquímico, Espectroscopia de absorción atómica, Cromatografía de capa fina, *Matricaria chamomilla* L., *Camellia sinensis* (L.) Kuntze.

ABSTRAC

The investigation was carried out on three brands of “Chamomile” and “Green tea” infusions that are marketed in El Salvador, to determine if there is contamination by heavy metals in plant material and prepared infusions and the preliminary phytochemical identification corresponding to each plant species. The determination of heavy metals was carried out by means of Atomic Absorption Spectroscopy by the Flame method (Cd, Ni, Pb) and Hydride Generator (As). In view of which, favorable results were obtained for the heavy metals As, Cd and Ni since for both plant species and for the three brands analyzed, their plant materials comply with the limits established by the international regulations WHO, EMEA and Ph Eur. Otherwise for Pb where the samples analyzed comply with the WHO and Ph Eur regulations, but exceed the limits established by the EMEA, except for the Mondaisa “Green Tea” brand only. The determinations of heavy metals corresponding to infusions were not quantifiable since all the samples present levels lower than the quantification limit

established in each case. The data obtained were statistically processed using the Shapiro-Wilk test and then applying the ANOVA analysis or the Kruskal-Wallis test. The practical development of the research was carried out in the Agricultural Chemistry Laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences and in the Natural Products Research Laboratory of the Faculty of Chemistry and Pharmacy.

Keywords: Heavy metals, Phytochemical analysis, Atomic absorption spectroscopy, Thin layer chromatography, *Matricaria chamomilla* L., *Camellia sinensis* (L.) Kuntze.

INTRODUCCIÓN

El término metal pesado se refiere a cualquier elemento químico metálico que tenga una alta densidad y sea tóxico o venenoso en concentraciones incluso muy bajas. Entre estos elementos podríamos incluir al mercurio (Hg), cromo (Cr), arsénico (As), cadmio (Cd), níquel (Ni) y plomo (Pb).¹² Según la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) estos elementos antes mencionados se encuentran dentro de los ocho principales contaminantes ambientales.⁹ Por lo que se vuelve de interés realizar investigaciones en productos de origen natural, ya que estos metales pesados pueden encontrarse en la naturaleza y bioacumularse en diferentes cultivos. Lo que conlleva a un aumento en la concentración de estos productos químicos en un organismo vivo en un cierto plazo de tiempo.¹²

Actualmente, las infusiones forman parte de la dieta habitual de la población a nivel mundial, a tal punto que la demanda y el consumo en los últimos años se han visto en un incremento.¹⁴ La mayoría de las hierbas medicinales son utilizadas como infusiones, esto debido a sus propiedades fitoterapéuticas y a los beneficios sobre diferentes funciones biológicas en el organismo. Convirtiéndose así en una de las bebidas más comunes en el mundo por sus beneficios en la salud.⁹ El salvador es un país con una gran tradición en el uso de plantas medicinales como por ejemplo el “Chichipince” (*Hamelia patens*) como antiinflamatorio y analgésico; “Eucalipto” (*Eucalyptus citriodora*) como expectorante para gripes o resfriados.¹⁶ Por tales razones, en esta investigación se seleccionaron como muestras de estudio tres marcas de infusiones de “Manzanilla” (*Matricaria chamomilla* L.) y “Té verde” (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) y así llevar a cabo un análisis fitoquímico preliminar, con la finalidad de autenticar la identidad del material vegetal en estudio por medio de la identificación química de los constituyentes (metabolitos secundarios) característicos de cada especie vegetal; y la cuantificación de metales pesados por espectroscopia de absorción atómica, método instrumental analítico que permite la detección y cuantificación de estos elementos químicos los cuales representan riesgos potenciales en la salud del ser humano. Los resultados obtenidos serán comparados con los límites establecidos las normativas internacionales Organización Mundial de la Salud (OMS), Agencia Europea de Medicamentos (EMEA) y Farmacopea Europea (Ph Eur) y así determinar si existe contaminación por metales pesado.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTRAS

Se analizaron tres diferentes marcas de infusiones de “Manzanilla” y “Té verde” seleccionadas mediante una encuesta de preferencia en Google Form. En base a los resultados obtenidos las marcas seleccionadas fueron: McCormick, Mondaisa y Selectos.

El muestreo se realizó en el supermercado “Super Selectos San Luis” (latitud: 13.716397121186272, longitud: -89.21290803868517) donde para el análisis fitoquímico preliminar en material vegetal e infusiones se adquirió una caja de cada marca correspondiente a cada material vegetal, haciendo un total de 6 muestras. Y para la determinación de metales pesados en material vegetal e infusiones se

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTÍFICO

adquirieron tres cajas de cada marca correspondiente a cada material vegetal, haciendo un total de 18 muestras.

Cuadro N°1. Sistema de codificación para la identificación de muestras en el análisis fitoquímico preliminar.

| SISTEMA DE CODIFICACION | | | |
|---|--------|-----------------|--------|
| Marca | Código | Especie vegetal | Código |
| Mondaisa | M | Té verde | Tv |
| McCormick | Mc | Manzanilla | M |
| Selectos | S | - | - |
| Ejemplo: Marca – Especie vegetal SM: Selectos - Manzanilla | | | |

ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR

Maceración por ultrasonido (Extracto del material vegetal)

Se pesaron 10.0 g de material vegetal en un Erlenmeyer 125 mL. Se adicionó Etanol 90° hasta cubrir la muestra y se colocó en el ultrasonificador por 1 hora, a una temperatura de 25°C y 35 KHz. Transcurrido el tiempo se realizó el filtrado del extracto y se llevaron a cabo las determinaciones correspondientes de los metabolitos secundarios a través de cromatografía de capa fina (CCF).

Extracción por infusión (Extracto de la infusión)

Se colocó un beaker de 100 mL un sobre de bolsa filtrante de infusión. Posteriormente se humedeció con 10.0 mL de agua fría y luego se adicionaron 90.0 mL de agua en ebullición. Se tapó con un vidrio de reloj y se dejó reposar por 10 minutos. Transcurrido el tiempo se realizó el filtrado del extracto y se llevaron a cabo las determinaciones correspondientes de los metabolitos secundarios a través de cromatografía de capa fina (CCF).

Pruebas de identificación de metabolitos secundarios

El análisis fitoquímico de saponinas (método de espuma), cardiotónicos, alcaloides, sesquiterpenlactonas y terpenoides se llevó a cabo de acuerdo con la metodología descrita por Mejía et al. (2021).¹³

Identificación de Antraquinonas

Se realizó una cromatografía en capa fina en una placa de sílica gel UV254 con una fase móvil de acetato de etilo-metanol-agua (7:2.5:0.5), utilizando como testigo extracto de "cola de zorro" *Ceratophyllum demersum* y un agente revelador de KOH al 5% en metanol. La aparición de manchas color rosado, rojo o violeta al UV visible indica evidencia positiva para antraquinonas. Guerra et al. (2018).⁸

Identificación de Cumarinas

Se realizó una cromatografía en capa fina en una placa de sílica gel UV254 con una fase móvil de acetato de etilo-metanol-agua (8:1:1), utilizando como testigo 6,7-dihidroxi-4-metilcumarina y un

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTÍFICO

agente revelador de KOH 5% en metanol. La aparición de manchas azules fluorescentes en UV-365 nm indica evidencia positiva a cumarinas. Mejía et al. (2021).¹³

Identificación de Flavonoides

Se realizó una cromatografía en capa fina en una placa de sílica gel UV254 con una fase móvil de acetato de etilo-metanol-agua (8:1.5:0.5), utilizando como testigo quercetina y un agente revelador de AlCl₃ al 1% en etanol. La aparición de manchas amarillas fluorescentes en UV-3365 nm indica evidencia positiva a flavonoides. Mejía et al. (2021).¹³

Identificación de Taninos

Se realizó una cromatografía en capa fina en una placa de sílica gel UV254 con una fase móvil de acetato de etilo-metanol-agua (7:2.5:0.5), utilizando como testigo ácido tánico y un agente revelador de FeCl₃ 1% en metanol. La aparición de manchas azules, grises y verdes al UV visible indica evidencia positiva a taninos. Lock (1994).¹⁵

DIGESTIÓN Y CUANTIFICACIÓN DE METALES PESADOS

Digestión por vía seca para material vegetal

a. Determinación del porcentaje de humedad total.

Se pesaron 20.0 g de muestra, se colocaron en una estufa de vacío bajo las condiciones de T=105°C, P=100 mmHg y t=5 horas. Luego se llevaron a un desecador por 30 minutos y se realizó el pesado de las muestras nuevamente para determinar el valor del porcentaje de humedad total.

b. Determinación del porcentaje cenizas.

Se pesaron 10.0 g de muestra seca del paso anterior, se colocaron en un horno mufla bajo las condiciones de T= 500°C y t= 2 horas. Luego se llevaron a un desecador por 30 minutos y se realizó el pesado de las muestras nuevamente para determinar el valor del porcentaje de ceniza. Dichas cenizas fueron digeridas con ácido clorhídrico concentrado 37% y agua bidestilada para obtener la solución de cenizas correspondiente para la determinación de metales pesados en material vegetal.

Digestión por vía húmeda para infusiones

Se realizó el proceso descrito en el apartado extracción por infusión. Una vez obtenida la infusión, fue digerida con ácido clorhídrico concentrado 37% y ácido nítrico para obtener la solución de muestras líquidas correspondiente para la determinación de metales pesados en infusiones.

Cuantificación de metales pesados por espectroscopia de absorción atómica.

El análisis para la determinación de arsénico (As) por el método de horno de grafito y la determinación de cadmio (Cd), níquel (Ni) y plomo (Pb) por el método de llama, se realizó mediante el uso de un Espectrómetro de Absorción Atómica (Shimadzu AA-7000) equipado con llama y horno de grafito. Siguiendo el método de análisis oficial de la AOAC₅ y el Atomic Absorption Spectrophotometry Cookbook. La calidad de los datos analíticos de los metales pesados se aseguró con muestras de análisis repetidas (n = 3)

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTIFICO

Tabla N°1. Parámetros para la determinación de metales pesados

| Metales pesados | Método | Longitud de onda | Curva de Calibración | | | | |
|-----------------|------------------------|------------------|----------------------|------|------|------|------|
| | | | Std 1 | Std2 | Std3 | Std4 | Std5 |
| As | Horno de grafito (ppb) | 193.7 nm | 0.5 | 1.0 | 2.0 | 3.0 | 5.0 |
| Cd | Llama (ppm) | 228.8 nm | 0.25 | 0.50 | 1.0 | 1.5 | 2.0 |
| Ni | Llama (ppm) | 232.0 nm | 0.20 | 0.50 | 1.0 | 3.0 | 5.0 |
| Pb | Llama (ppm) | 283.3 nm | 0.20 | 0.50 | 1.0 | 3.0 | 5.0 |

RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Durante la última década, la comercialización de las infusiones ha ido incrementando paulatinamente. De igual forma se ha visto un aumento significativo en el uso de las hierbas medicinales e infusiones de hierbas. Sin embargo, muchos de estos productos se comercializan sin antes demostrar su eficacia, seguridad o calidad. Por lo que resulta de interés analizar este tipo de productos comercializados en nuestro país. Se sometieron a investigación las marcas "Mondaisa, McCormick y Selectos" de las especies vegetales *Matricaria chamomilla* L. y *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. De las cuales al llevarse a cabo el análisis fitoquímico preliminar se observa que: Para "Manzanilla" en las muestras de material vegetal e infusiones se obtuvieron resultados positivos a los grupos fitoquímicos de flavonoides, cumarinas y terpenoides los cuales son característico de dicha especie. (Ver tabla N°4) Cabe mencionar que en nuestro análisis no se detectó la presencia de cardiotónicos ni sesquiterpenolactonas (componentes característicos) ya que según la literatura estos metabolitos secundarios se encuentran en mayor abundancia cuando la planta se halla en estado fresco y a la vez dichos componentes son sensibles al calor ya que este genera la ruptura del anillo de lactona insaturada⁽⁹⁾ y en nuestro caso las muestras de material vegetal se encontraban secas e incineradas. Así mismo para "Té verde" tanto para material vegetal como como en infusiones se obtuvieron resultados positivos para los grupos fitoquímicos cardiotónicos, sesquiterpenolactonas, antraquinonas, cumarinas y terpenoides. (Ver tabla N°4). Siendo estos últimos compuestos polifenólicos característicos de esta especie, los cuales suelen encontrarse en materia seca y su contenido varía de acuerdo con la edad de la planta y la estación ambiental. Se reporta un falso positivo para los compuestos cardiotónicos y cumarinas ya que ambas pruebas identifican lactonas insaturadas por lo que el resultado positivo a Kedde puede deberse a la lactona insaturada de las cumarinas.⁽¹⁰⁾ La ausencia de flavonoides puede deberse a que estos componentes sufren degradación o epimerización por efecto de las condiciones de procesamiento (temperatura y pH) y tiempo de almacenamiento de los alimentos que contienen estos compuestos. Por lo que gracias a la detección preliminar de los diferentes constituyentes químicos identificados en las plantas fue posible comparar los perfiles fitoquímicos y confirmar que las muestras corresponden al material vegetal de interés a estudiar y que corresponde al declarado en el empaque por los fabricantes.

Con respecto a la cuantificación de metales pesados (As, Cd, Ni y Pb) se obtuvieron resultados favorables para los metales arsénico, cadmio y níquel, ya que el material vegetal de ambas especies en estudio y las tres marcas seleccionadas cumplen con los límites establecidos por las normativas internacionales OMS, EMEA y Ph Eur. Por lo que el uso de este material vegetal para la elaboración de infusiones se considera seguro, desde el punto de vista de los metales antes mencionados. (Ver tabla

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTIFICO

N°3) Caso contrario para el plomo, donde la concentración de plomo en "Manzanilla" y "Té verde" las tres marcas analizadas cumplen con las normativas OMS y Ph Eur. Sin embargo, ninguna de ellas y para ambas especies vegetales cumple con la normativa EMEA a excepción de Mondaisa "Té verde"; cabe recalcar que el límite de referencia establecido por esta normativa esta referido a medicamentos y/o dosis orales permitidas, aumentando la importancia de sobrepasar dicho valor. Por lo que no se recomienda el consumo de estas marcas, desde el punto de vista de este metal. (Ver tabla N°3) Ya que esto representa un riesgo para la salud del ser humano. Y se recomienda monitorear la presencia de este metal y complementar dicha vigilancia con otros análisis que permitan identificar fuentes de contaminación y las repercusiones en la salud por consumo de productos herbarios contaminados por metales pesados.

Estadísticamente se determinó cuales marcas presentan homogeneidad y cuales diferencias entre ellas con respecto a la concentración de metales y se obtiene que: para As, las tres marcas seleccionadas para ambas especies vegetales no cuentan con diferencias significativas entre ellas; para Cd, "Té verde" presenta homogeneidad en McCormick-Selectos y diferencia en Mondaisa-McCormick / Mondaisa-Selectos y "Manzanilla" homogeneidad en McCormick-Mondaisa y diferencia entre Mondaisa-Selectos / McCormick-Selectos; para Ni, las tres marcas seleccionadas para ambas especies vegetales si presentan diferencias significativas entre ellas; para Pb, "Té verde" presenta homogeneidad para McCormick-Selectos y diferencia en Mondaisa-McCormick / Mondaisa-Selectos y "Manzanilla" presenta homogeneidad entre las tres marcas. Cabe mencionar que, de las muestras analizadas, las matrices correspondientes a "infusiones preparadas" dieron resultados "menores al límite de cuantificación" (MLC) es decir que los niveles de los metales podrían estar presentes en concentraciones menores al estándar más bajo establecido en la curva de calibración y que la cuantificación de estas concentraciones mínimas ya no pueden ser medidas ya que se encuentran fuera de los límites especificados.

Tabla N°2. Normativas internacionales para contenido de metales pesados en plantas.

| Metales pesados | Clasificación de elementos EMEA | Valores de Referencia | | |
|-----------------|---------------------------------|-----------------------|----------------------|------------------------|
| | | EMEA ppm | OMS *1999 / 2007 ppm | Farmacopea Europea ppm |
| As | Clase 1 | 1.5 | 10.0 | - |
| Cd | Clase 1 | 0.5 | 0.3 | 1.0 |
| Ni | Clase 2A | 20.0 | *10.0 | - |
| Pb | Clase 1 | 0.5 | 10.0 | 5.0 |

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTIFICO

Tabla N°3. Resultados de la concentración de metales pesados en material vegetal e infusiones

| Planta | Marcas | Material Vegetal | | | | Infusiones | | | |
|------------|-------------|------------------|--------|--------|--------|------------|-----|-----|-----|
| | | As | Cd | Ni | Pb | As | Cd | Ni | Pb |
| Manzanilla | Mondaisa 1 | 0.1912 | 0.0889 | 0.9989 | 1.2049 | | | | |
| | Mondaisa 2 | 0.1818 | 0.0816 | 1.1825 | 1.3695 | MLC | MLC | MLC | MLC |
| | Mondaisa 3 | 0.1865 | 0.0961 | 1.2745 | 1.5344 | | | | |
| | McCormick 1 | 0.2055 | 0.0852 | 1.0596 | 1.2045 | | | | |
| | McCormick 2 | 0.2051 | 0.0572 | 0.6927 | 1.5342 | MLC | MLC | MLC | MLC |
| | McCormick 3 | 0.2004 | 0.0843 | 0.5698 | 1.0386 | | | | |
| | Selectos 1 | 0.2126 | 0.1639 | 1.5500 | 0.8740 | | | | |
| | Selectos 2 | 0.1986 | 0.1304 | 1.4887 | 1.3697 | MLC | MLC | MLC | MLC |
| | Selectos 3 | 0.2210 | 0.1413 | 1.4889 | 0.8739 | | | | |
| Té Verde | Mondaisa 1 | 0.1092 | 0.1575 | 0.8146 | 0.2119 | | | | |
| | Mondaisa 2 | 0.0962 | 0.1666 | 1.3049 | 0.2120 | MLC | MLC | MLC | MLC |
| | Mondaisa 3 | 0.0813 | 0.1811 | 1.4889 | 0.2120 | | | | |
| | McCormick 1 | 0.0920 | 0.0030 | 3.6919 | 0.5428 | | | | |
| | McCormick 2 | 0.0832 | 0.0039 | 2.4370 | 0.8737 | MLC | MLC | MLC | MLC |
| | McCormick 3 | 0.0957 | 0.0021 | 1.5494 | 0.8737 | | | | |
| | Selectos 1 | 0.1725 | 0.0301 | 1.0598 | 0.8738 | | | | |
| | Selectos 2 | 0.2116 | 0.0202 | 0.7239 | 0.5429 | MLC | MLC | MLC | MLC |
| | Selectos 3 | 0.2223 | 0.0545 | 0.3868 | 1.0385 | | | | |

*MLC: menor al límite de cuantificación.

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTIFICO

Tabla N°4. Resumen del análisis fitoquímico preliminar de material vegetal e infusiones de manzanilla y té verde.

| Mx | Saponinas | Cardiotónicos | Flavonoides | Antraquinonas | Taninos | Alcaloides | Sesquiterpenlactonas | Cumarinas | Terpenoides |
|------|-----------|---------------|-------------|---------------|---------|------------|----------------------|-----------|-------------|
| MS | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| MMc | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| MMd | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| MS | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| MMc | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| MMd | - | - | + | - | - | - | - | - | + |
| TvS | - | + | - | + | + | - | + | + | + |
| TvMc | - | + | - | + | + | - | + | + | + |
| TvMd | - | + | - | + | + | - | + | + | + |
| TvS | - | + | - | + | + | - | + | + | + |
| TvMc | - | + | - | + | + | - | + | + | + |
| TvMd | - | + | - | + | + | - | + | + | + |

Plantas: M: Manzanilla, Tv: Té verde // Marcas: S: Selectos, Mc: McCormick, Md: Mondaisa.

BOSQUEJO DE ARTÍCULO CIENTIFICO

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agencia Europea de Medicamentos - EMEA (2019). ICH Harmonised guideline for elemental impurities Q3D(R1). Netherlands.
2. Farmacopea Europea. (2008). Fármacos a base de hierbas, monografía 0765; monografía 1433. (6ª. Edición). Estrasburgo, Francia.
3. Organización Mundial de la Salud – OMS (2007). Directrices para la evaluación de calidad de los medicamentos a base de hierbas con referencia a los contaminantes y residuos. Ginebra, Suiza.
4. Organización Mundial de la Salud – OMS (1999). Monografía de la OMS sobre plantas medicinales seleccionadas. (volumen 1). Ginebra, Suiza.
5. A.O.A.C. (1980). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. (13a Edition). E.U.A
6. Shimadzu Corporation. Atomic absorption spectrophotometry cookbook.
7. Ferrer Dufol A. (2003) Intoxicación por metales. ANALES del sistema sanitario de Navarra. 26(1), 141 – 153 .
8. Guerra R, Gómez LJ, Castillo UG, Toloza G, Sánchez-Pérez JP, Avalos N, Mejía JG, Nuñez MJ, Moreno MA. Efecto analgésico, caracterización fitoquímica y análisis toxicológico del extracto etanólico de hojas de *Pereskia lychnidiflora*. Rev Peru Med Exp Salud Publica. 2018;35(4):581-9. doi:10.17843/rpmesp.2018.354.3532
9. Hernández, B. (2017). Evaluación del contenido de cadmio en infusiones de Manzanilla preparadas a partir de tisanas comercializadas en Costa Rica. (Tesis de pregrado). Universidad de Costa Rica
10. Hernández Mancía, S.; Morataya Gonzáles, M. (2017). Análisis fitoquímico y determinación de metales pesados, minerales y oligoelementos, en plantas medicinales comercializadas en el mercado central de san salvador. (Tesis de pregrado). Universidad de El Salvador.
11. Martínez, M.L.; Nuñez, M.J.; Toledo, R.A; Santamaría de Campos, A.M.; Guardado Castillo, U. O. (2020). Manual de Farmacognosia, Ciclo I / 2020. Departamento de Farmacia y Tecnología farmacéutica, Sección de Investigación Aplicada y Tesis Profesionales. Universidad de El Salvador.
12. Navarro Aviñó, J.P.; Aguilar Alonso, I; López Moya, J.R. (2007). Aspectos bioquímicos y genéticos de la tolerancia y acumulación de metales pesados en plantas. Revista Científica y Técnica de Ecología y Medio Ambiente, Ecosistemas 16(2), 10 – 25.
13. Mejía, J.G; Vásquez, S.; Salazar, R. et. al. (2021). Analgesic activity and phytochemical profiles of aqueous, ethanol and dichloromethane extracts of *Persea schiedeana* Leaves. Int J Pharm Sci and Res. 12(8), 4167 – 4173.
14. Valenzuela, B. (2004). El consumo de té y la salud: Características y propiedades benéficas de esta bebida milenaria. Revista chilena de nutrición, 31(2), 72-82.

Fuente: Elaboración propia.