

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**  
**FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**



**CUANTIFICACIÓN DE TANINOS COMO DERIVADOS DEL ÁCIDO  
TANICO EN EXTRACTOS ACUOSOS DE LAS CORTEZAS DE  
Byrsonima crassifolia (NANCE), Pithecollobium dulce  
(MONGOLLANO) Y HOJAS DE Murraya paniculata (MIRTO)**

TRABAJO DE GRADUACIÓN PRESENTADO POR:

**KARLA DELMY CEDEÑO SANDOVAL**

**ADILIA VIOLETA RIVAS CASTRO**

PARA OPTAR AL GRADO DE:

**LICENCIADA EN QUÍMICA Y FARMACIA**

MAYO DE 2003

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.



**© 2001, DERECHOS RESERVADOS**

Prohibida la reproducción total o parcial de este documento,  
sin la autorización escrita de la Universidad de El Salvador

**SISTEMA BIBLIOTECARIO, UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTORA**

DRA. MARIA ISABEL RODRIGUEZ

**SECRETARIA GENERAL**

LICDA. LIDIA MARGARITA MUÑOZ VELA

**FACULTAD DE QUÍMICA Y FARMACIA**

**DECANA**

LICDA. MARIA ISABEL RAMOS DE RODAS

**SECRETARIA**

LICDA. ANA ARELY CACERES MAGAÑA

## **COMITÉ DE TRABAJO DE GRADUACIÓN**

### **Coordinadora General**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

### **Coordinador de Área Aprovechamiento de Recursos Naturales**

MSc. Armando Nelson Genovés Leonor

### **Coordinadora de Área Aprovechamiento de Recursos Naturales**

MSc Sonia Maricela Lemus

### **Docente Director**

Ing. Sergio Armando Maravilla

### **Docente Directora**

Licda. Morena Martínez de Díaz

## **AGRADECIMIENTOS**

A NUESTROS DOCENTES DIRECTORES: por su entusiasmo, orientación y apoyo, por la confianza que depositaron en nosotros para llevar a cabo este Trabajo de Graduación

LIC. ARTURO GARCÍA MAZZINI: por su colaboración durante el desarrollo experimental del presente Trabajo de Graduación.

LIC. ROXANA DE CHACÓN: por su apoyo y amistad incondicional en los momentos que más lo necesitábamos.

LABORATORIOS VIJOSA Y ANCALMO: por las facilidades prestadas al solicitarles la utilización de equipo de laboratorio para el análisis de las muestras permitiendo el complemento de los resultados de los datos experimentales.

DEMÁS PERSONAS: que de una otra manera nos brindaron su apoyo y colaboración incondicionalmente para la elaboración de este Trabajo de Graduación.

## **DEDICATORIA**

A DIOS TODOPODEROSO: fuente de Amor, inspiración y sabiduría, tu me has permitido llegar al cumplimiento de este logro tan significativo en mi vida.

A MI FAMILIA: Por todo su amor y soporte incondicional, por su dedicación, confianza, sus consejos y por impulsarme a lograr mis metas.

Mami Blanca, gracias por ser mi amiga y por fomentar en mi el amor a la farmacia.

Mami Luisa, gracias por toda tu dedicación y cariño.

Ustedes son mi ejemplo.

Juan, mi querido Hermano, gracias por todo tu cariño y apoyo.

Papá, desde el cielo sé que nunca me has dejado de apoyar.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS: con quienes compartí grandes momentos, gracias por su sincero aprecio y cariño.

A MI AMIGA Y COMPAÑERA VIOLETA: por la mutua comprensión, el entusiasmo, confianza y esfuerzo puesto en este Trabajo de Graduación.

KARLA DELMY CEDEÑO SANDOVAL

## **DEDICATORIA**

A DIOS TODOPODEROSO: tú me has concedido alcanzar esta cúspide tan trascendental en mi vida, gracias por haber sido mi mayor inspiración, guía y apoyo en todo momento.

A MIS PADRES RODOLFO Y ADILIA: con todo mi corazón les obsequio este triunfo como tributo a su amor y sacrificio, su dedicación y esmero. Gracias por sus consejos, confianza y por haberme impulsado incondicionalmente cada instante a culminar ésta etapa tan importante de mi vida.

A MIS HERMANOS JAIME Y RICARDO: por ser parte significativa de mi vida, gracias por todo el ánimo, comprensión y apoyo brindado.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS: con quienes compartí grandes momentos y superé muchas adversidades en el desarrollo de nuestros estudios.

A MI AMIGA Y COMPAÑERA KARLA: gracias por la amistad, confianza y esfuerzo aportado para concluir el presente logro.

ADILIA VIOLETA RIVAS CASTRO

## ÍNDICE

	Pág.
I. INTRODUCCIÓN	i
II. OBJETIVOS	
2.1 OBJETIVO GENERAL	
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
III. MARCO TEÓRICO	5
IV. DISEÑO METODOLOGICO	38
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	46
VI. CONCLUSIONES	64
VII. RECOMENDACIONES	67
BIBLIOGRAFÍA	70
ANEXOS	

**ÍNDICE DE FIGURAS**

Figura	Pág.
No. 1 Estructura de los taninos hidrosolubles	7
No. 2 Flor, fruto, hojas y corteza del Nance	12
No. 3 Árbol, flor, hojas y corteza del Mongollano	17
No. 4 Flor, frutos y hojas del Mirto	22



## ÍNDICE DE FOTOS

Foto	Pág.
No. 1 Pruebas de Identificación del estándar de referencia Ácido Tánico	Anexo 11
No. 2 Determinación del tiempo óptimo de extracción	Anexo 11
No. 3 Análisis Fitoquímico preliminar del extracto de corteza de Nance	Anexo 11
No. 4 Cuantificación de Taninos en extracto de corteza de Nance	Anexo 11

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica	Pág.
No. 1.1 Curva de calibración promedio del estándar de referencia ácido tánico.	48
No. 2. Tiempo óptimo de extracción de taninos	50
No. 3 Regiones de rechazo y no rechazo para el análisis de varianza al nivel de significación 0.05 con 2 y 9 grados de libertad con un F tabulado igual a 4.26.	63
No. 1.2 Curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico 1	Anexo 8
No. 1.3 Curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico 2	Anexo 8
No. 1.4 Curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico 3	Anexo 8
No. 1.5 Curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico 4	Anexo 8
No. 1.6 Curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico 5	Anexo 8
No. 1.7 Curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico 6	Anexo 8

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Pág.
No. 1 Alícuotas tomadas de la solución patrón (50 µg/mL)	43
No. 2 Resultado del análisis de identificación del estándar de referencia ácido tánico	47
No. 3 Resultados de las absorbancias de las curvas de calibración	48
No. 4 Absorbancias de las muestras del extracto de Mongollano obtenidas en la determinación del tiempo óptimo de extracción	49
No. 4.1 Concentración de taninos en base seca en la corteza adulta de Mongollano obtenidas en la determinación del tiempo óptimo de extracción.	50
No. 5 Resultados del análisis fitoquímico preliminar del extracto de corteza de Nance, corteza de Mongollano y hojas de Mirto	51
No. 6 Resultados de las absorbancias de la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico del extracto de corteza de Nance	52
No. 6.1 Porcentajes de humedad presente en un gramo de muestra de corteza seca de Nance.	52
No. 6.2 Concentración de taninos como base seca en la corteza de Nance	52
No. 7 Resultados de las absorbancias de la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico del extracto de corteza joven de Mongollano	53

No. 7.1 Porcentajes de humedad presente en un gramo de muestra de corteza joven seca de Mongollano	53
No. 7.2 Concentración de taninos como base seca en la corteza joven de Mongollano	54
No. 8 Resultados de las absorbancias de la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico del extracto de hojas de Mirto	54
No. 8.1 Porcentajes de humedad presente en un gramo de muestra de hojas secas de Mirto	55
No. 8.2 Concentración de taninos como base seca en las hojas de Mirto	55
No. 9.1 Absorbancia vrs Concentración	56
No. 9.2 Absorbancia vrs Concentración de muestra para 4 ppm	56
No. 9.3 Procesamiento de datos de Concentración de muestra para 4 ppm	57
No. 9.4 Resultados del parámetro de exactitud	57
No. 10.1 Procesamiento de datos para la concentración de 4 ppm	58
No. 11.1 Reproducibilidad: concentración vrs absorbancia	59
No. 11.2 Cálculo de reproducibilidad para la concentración 4 ppm	60
No. 11.3 Procesamiento de datos para la concentración 4 ppm	60

No. 11.4 Interpretación del análisis de la ANOVA	61
No. 12.1 Cantidad de taninos en gramos presentes en las muestras de las especies vegetales en estudio.	62
No. 12.2 Datos para el análisis de varianza para las muestras de las especies vegetales en estudio	62
No. 12.3 Procesamiento de los datos obtenidos en el método analítico a una concentración de 8 ppm de ácido tánico	Anexo 10
No. 12.4 Procesamiento de los datos obtenidos en el método analítico a una concentración de 10 ppm de ácido tánico	Anexo 10
No. 12.5 Procesamiento de los datos obtenidos en el método analítico a una concentración de 12 ppm de ácido tánico	Anexo 10
No. 12.6 Procesamiento de los datos obtenidos en el método analítico a una concentración de 16 ppm de ácido tánico	Anexo 10

## INDICE DE ABREVIATURAS USADAS

- °C    grados centígrados
- cm    centímetros
- g    gramos
- Kcal    Kilocalorías
- Kg    Kilogramos
- mg    miligramos
- mL    miliLitros
- mm    milímetros
- nm    nanómetros
- ppm    partes por millón (mg/L)
- r    coeficiente de regresión
- μg    microgramos

## RESUMEN

Se desarrolló un método espectrofotométrico ultravioleta-visible para la cuantificación de taninos en los extractos acuosos de corteza de Nance, Mongollano y hojas de Mirto, las muestras son leídas a una longitud de onda de 700 nm y sus absorbancias referidas a ácido tánico. La curva de calibración fue realizada para el rango de concentraciones comprendidas entre 4 y 16 ppm, fue lineal para la sustancia de referencia ácido tánico; además los parámetros estadísticos permitieron comprobar que el método posee una exactitud y precisión mayor que la metodología utilizada hasta el momento.

Este método espectrofotométrico se basa en la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin (tungsto-fosfomolibdico; carbonato de sodio al 20%), el cual produce un complejo de color azul, cuya extinción es medida a una longitud de onda de 700nm, determinando el contenido total de fenoles en el extracto acuoso. Posteriormente se utiliza una solución de gelatina al 25% para garantizar el secuestro de los taninos, se adiciona una solución de Cloruro de Sodio acidificada para reducir el exceso de gelatina, y luego caolín para ayudar al precipitado de gelatina y taninos a sedimentar y facilitar el filtrado; permitiendo así la determinación de fenoles residuales. Obteniéndose de la diferencia de ambas determinaciones el porcentaje de taninos reportados como derivados del ácido tánico.

## **I. INTRODUCCIÓN**



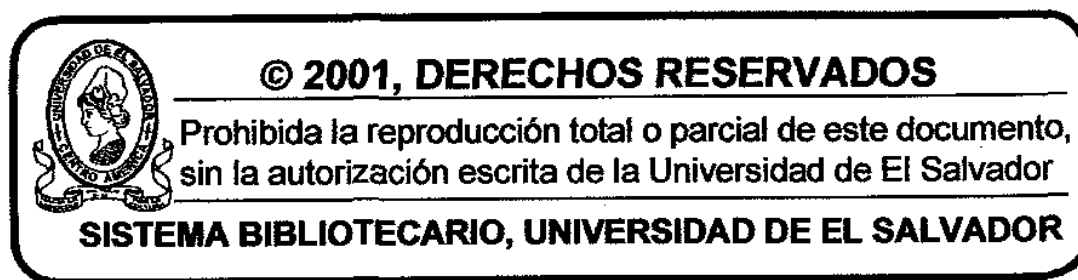
## 1.0 INTRODUCCIÓN

La presente investigación tiene como finalidad el desarrollo de un método analítico preciso y exacto para la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico presentes en tres especies que son encontradas comúnmente en el país : Nance, Mirto y Mongollano; las cuales en investigaciones anteriores se les ha identificado la presencia de concentraciones altas de taninos, por lo que fueron seleccionadas para ser sometidas a estudio, mediante la extracción, análisis fitoquímico preliminar y posterior cuantificación para efecto de conocer el contenido de taninos como ácido tánico.

Además dicho estudio es un antecedente para que en posteriores investigaciones puedan formularse productos que los contengan, conociendo de antemano las propiedades terapéuticas de los taninos. Los taninos son una fuente alterna de materia prima en diversos procesos industriales por lo cual en El Salvador y en todo el mundo se están haciendo grandes esfuerzos por identificar y cuantificar los principios activos presentes en las plantas. Permitiendo así la generación de fuentes de empleo incentivando el cultivo de las especies y su subsiguiente industrialización. Además de poseer una gran importancia por el uso tradicional que le ha proporcionado la población a las infusiones vegetales en el afán de encontrar alivio y cura de enfermedades; por su bajo costo, fácil obtención y pocos efectos secundarios.<sup>5</sup> Aunque estos productos al ser utilizados de una

forma empírica pueden ocasionar efectos tóxicos o nocivos en la población puesto que se desconocen las concentraciones de los componentes y la dosificación exacta de los principios activos presentes en las plantas.

## **II. OBJETIVOS**



## 2.0 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Cuantificar los taninos como derivados del ácido tánico en extractos acuosos de las cortezas de Byrsonima crassifolia (Nance), Pithecollobium dulce (Mongollano) y las hojas de Murraya paniculata (Mirto).

### 2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Elaborar la curva de calibración a partir del estándar de referencia de ácido tánico
- 2.2.2 Determinar el tiempo óptimo, para la extracción de taninos presente en la corteza de Pithecollobium dulce (Mongollano).

- 2.2.3 Realizar extracciones acuosas de taninos presentes en las cortezas de Pithecollobium dulce (Mongollano), Byrsonima crassifolia (Nance) y hojas de Murraya paniculata (Mirto).
- 2.2.4 Efectuar el análisis fitoquímico preliminar de identificación de la presencia de taninos en los extractos acuosos de la corteza de Byrsonima crassifolia (Nance) y Pithecollobium dulce (Mongollano) y hojas de Murraya paniculata (Mirto).
- 2.2.5 Cuantificar el contenido de taninos como derivados del ácido tánico en los extractos acuosos utilizando un método de espectroscopía visible.
- 2.2.6 Determinar los parámetros estadísticos: exactitud, precisión, límite de cuantificación y reproducibilidad.

### **III. MARCO TEORICO**

### 3.0 MARCO TEORICO

#### 3.1 TANINOS

3.1.1 Definición: Los taninos son sólidos amorfos, inodoros de sabor astringente más o menos soluble en el agua, soluble en el alcohol, mezclas de alcohol y éter y notablemente en acetato de etilo. Son combustibles, con un punto de inflamación de 199° C y una temperatura de autoignición de 528.5° C, poco tóxicos por ingestión o inhalación.

Los taninos naturales son agentes reductores poderosos, con marcada tendencia a absorber oxígeno, especialmente en soluciones alcalinas. Sus productos de oxidación son marcadamente coloreados<sup>1</sup>.

Comprenden un gran grupo de sustancias complejas que están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Casi todas las familias de plantas abarcan especies que contienen taninos. Cuando los taninos están presentes en cantidades apreciables, localizados en partes específicas de las plantas como: raíces, corteza, frutos, semillas, tallos y en menor medida en las hojas; a pesar de tener un origen común la especificidad de las plantas le da a los taninos diferencias en color, calidad y concentraciones. Desde el punto de vista biológico los taninos son sustancias complejas producidas por las especies vegetales que cumplen funciones antisépticas o de conservación.

3.1.2 Clasificación: Se hace con base en los siguientes tres criterios:

1. Productos resultantes de la destilación seca (está separación se basa en la diferencia de volatilidades absolutas de los componentes, lo que tiene como consecuencia la formación de vapor de composición diferente a la del líquido del que procede)<sup>3</sup>

a) Taninos Hidrosolubles o Pirogálicos: Son ésteres fácilmente hidrolizables formados por una molécula de azúcar (en general glucosa) unida a un número variable de moléculas de ácidos fenólicos. Son comunes de observar en plantas Dicotiledóneas. Cuando se destilan en seco producen pirogalol, que a su vez se dividen en:

- Galotaninos: su componente principal ácido galotánico
- Elagitaninos: como constituyente principal el ácido elágico.

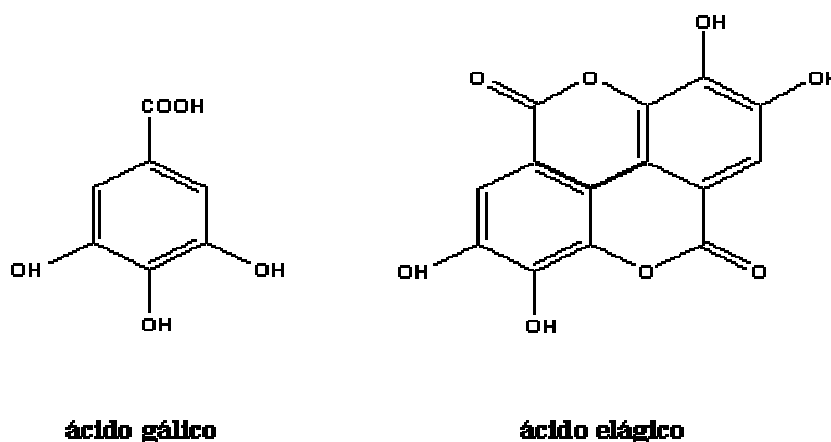


Fig. No. 1 Estructura de los taninos hidrosolubles

b) Taninos no Hidrosolubles ó Condensados: Tienen una estructura química similar a la de los flavonoides soportando diversos grados de condensación. Por hidrólisis dan azúcar, restos de aminoácidos y ácido elágico. Se subdividen en:

- Catéquicos: Presentan catequina en su estructura
  - Leucoantocianidinas ó proantocianidina oligoméricas (pícnogenoles).<sup>1</sup>
2. Por su origen
- Taninos fisiológicos: son el resultado de las funciones metabólicas de las plantas.



- Taninos patológicos: son una respuesta al ataque de insectos ya sea por ovoposición o por picaduras.

3. Por su presentación

a) Concentrados líquidos

b) Extractos en polvo

Las concentraciones de las presentaciones anteriores, más comunes son las siguientes:

- Líquida del 25 al 45 % de taninos
- Sólida del 45 al 65 % de taninos
- Polvo del 55 al 70 % de taninos.<sup>18</sup>

### **3.1.3 Reconocimiento Cualitativo de taninos**

#### **3.1.3.1 Reacciones Generales**

Los taninos no son compuestos cristalizables; ellos con agua forman una solución coloidal con sabor astringente muy marcado.

Ellos causan precipitación de soluciones de Gelatina, se aconseja añadir una pequeña cantidad de cloroformo a la solución para preservarla, deben evitarse también las soluciones alcohólicas de taninos pues el alcohol produce turbidez en presencia de las soluciones acuosas de gelatina. También precipitan los Alcaloides, aquí hay que hacer notar que también otras sustancias fenólicas son precipitadas por los alcaloides, por ejemplo: fenol y ácido salicílico.

Forman compuestos de coloración azul oscuro o negro verdusco, o precipitados con Sales Férricas. Producen un color rojo profundo con Ferrocianuro de Potasio y Amonio

y son precipitados por Sales de Cobre, Plomo o Estaño. Con las soluciones concentradas de Cromato de Potasio o Ácido Crómico 1% dan precipitados coloreados.<sup>23</sup>

#### 3.1.4 Usos

Antiguamente utilizados como colorantes de pieles y alimentos la cocoa y el té, la precipitación de la gelatina a través de los taninos sirve para clarificar el vino, así como también la capacidad de precipitar proteínas para el curtido de pieles. En ese sentido, los taninos se intercalan entre las fibras de colágeno, estableciendo uniones que permiten crear una gran resistencia frente al agua y el calor, haciendo que la piel se convierta en cuero. Esta combinación de los taninos con proteínas de la piel, forman precipitados resistentes a la putrefacción, lo cual priva a las bacterias contaminantes de su sustrato nutritivo. Su poder astringente lo hace apto para la cicatrización de heridas, sobre todo administrado en forma de cataplasmas.

Se emplean como antídoto en intoxicación por alcaloides pues los precipitan. Estas virtudes se deben a la propiedad que tienen de combinarse a otras sustancias para originar reacciones fenólicas.

Las plantas que tienen taninos y esencias (salvia, menta) son muy útiles como antisépticos y antiinflamatorios en casos de bronquitis, hemorroides, sabañones, etc.<sup>1</sup>

#### 3.1.5 Propiedades Farmacológicas

- Antidiarreicos.
- Cicatrizantes - Hemostáticos.

- Antídoto de intoxicaciones por metales pesados y alcaloides.
- Antisépticos: bactericidas, bacteriostáticos y antifúngicos.
- Reepitelizantes (en uso externo impermeabilizan, protegen y reepitelizan pieles dañadas).
- Hipocolesterolemiantes.
- Antioxidantes.
- Protectores de la pared vascular
- Antinutrientes (por precipitar o inhibir enzimas digestivas).

Los taninos se presentan en especies vegetales de todo el mundo, se han identificado aproximadamente 500 especies de plantas que contienen varias cantidades de taninos entre las principales familias botánicas con importancia en la obtención de taninos se pueden citar las siguientes: Leguminaceae, Rosaceae, Polygonaceae, Myrthaceae, Rhizophoraceae y Malpighiaceae.<sup>1</sup>

## 3.2 ESTUDIO BOTÁNICO

### 3.2.1 Byrsonima crassifolia<sup>11</sup>

Nombre científico y familia: Byrsonima crassifolia MALPIGIÁCEAS

Nombre común: "Nance", "indano", "nanci", "yoco", "chaparro", "maricas", "marushi", "cimarron", "nancite", "changugo", "chaparro manteca", "chaparro de sabana", "paralejo"

(español), "muruci", "muruci do campo", "muruci da praia craboo" (portugués), "wild cherry" (inglés), "quinaquina des savanes" (francés), "hori" (holandés).

Sinónimos aceptados: Malpighia crassifolia, L., Byrsonima cinerea Dec., B. conitifolia Kunth, B. ferruginea.

3.2.1.1 Descripción botánica: Arbusto o pequeño árbol de 2 a 10 m de altura, con el tronco tortuoso, muy ramificado, con las ramas tocando el suelo o creciendo casi horizontalmente, corteza gruesa y superficie escamosa.

Follaje Perennifolio / Caducifolio. Hojas opuestas, simples, coriáceas brillantes, pecíolo corto, limbo elíptico, 7 a 15 cm de largo por 3 a 7 cm de ancho, ápice obtuso o agudo, haz liso pero con tegumento ferruginoso en el envés<sup>12</sup>. Inflorescencia en racimos terminales alargados con cerca de 12 cm de longitud. Flores hermafroditas pentámeras, cáliz con cinco sépalos verdes ovales triangulares, cada uno con dos glándulas en la base; corola con cinco pétalos amarillos que se tornan anaranjados con los días, con una uña vellosa en la base. Estambres en número de diez. Anteras oblongas, basífilas, biloculares. Ovario glabro, ovoide-oblongo, con tres estilos que terminan en tres estigmas agudos, florece de noviembre a julio, principalmente de marzo a junio. Cada árbol florece cerca de 6 semanas. El fruto es una pequeña drupa globosa, de 1 a 2 cm de diámetro, epicarpio o cáscara delgada, color verde (inmaduro) y amarillo (maduro); la parte comestible constituida por el mesocarpio de color amarillo, suave y pastoso, con cerca de 0,5 cm de espesor, olor y sabor característicos; endocarpio ovalado, leñoso, conteniendo una

semilla viable. Los frutos maduran de julio a octubre, principalmente en agosto y septiembre. Número cromosómico:  $2n = 20, 24$ .



Fig. No. 2 Flor, fruto, hojas y corteza del Nance.

3.2.1.2 Origen: Árbol originario de Mesoamérica. Esta especie puede encontrarse nativa, silvestre, semicultivada, o protegida en muchas partes de su área de distribución. Se encuentra en estado silvestre en toda la Amazonia. Y se extiende desde el sur de México hasta Brasil, Perú, Bolivia y Paraguay. Ha sido sembrada en el sur de Florida, USA. Altitud: 50 a 1,000 msn.

3.2.1.3 Ecología y Adaptación: Planta que se encuentra siempre en suelos arenosos con buen drenaje, posee una buena capacidad de adaptación a condiciones medioambientales; por lo que puede utilizarse para reforestación en suelos degradados.

3.2.1.4 Hábitat: Prospera en laderas abiertas y pedregosas del bosque tropical caducifolio, también en laderas de cerros a menudo formados por rocas metamórficas y terrenos planos. Habita en lugares con clima cálido, semicálido y templado. Se le encuentra en suelos bastante degradados. Puede soportar condiciones de drenaje excesivamente rápido o con drenaje deficiente que se inundan en la época húmeda y se secan en el periodo de sequía. Se le observa en áreas de cultivo abandonado. Suelos: moreno rocoso, arcilloso, amarillo-arcilloso, lava volcánica, café-pedregoso, calizo profundo-rojizo.

3.2.1.5 Importancia Ecológica: Especie Primaria / Secundaria. Frecuente en el estrato arbóreo de pastizales, constituye junto con *Curatella* y *Crecentia* las llamadas “selvas sabaneras”.

Reforestación / Restauración. Especie con potencial para reforestación productiva en zonas degradadas de selva.

Aspectos del cultivo. Tolera bien el corte o poda. Para su siembra el espaciado debe ser de 3 a 4 m en cuadro.

Propagación: Reproducción asexual. 1. Estacas. 2. Acodos aéreos. 3. Injertos.

Reproducción sexual. 1. Semilla (plántulas).

Efecto(s) restaurador(es). 1. Aporta materia orgánica de fácil desintegración (barbecho) por lo que mejora la calidad de los suelos, aumentando su fertilidad.

Servicio(s) al ambiente. 1. Se pueden sembrar en doble fila para formar un seto vivo.

2. Ornamental.

3. Refugio. Proporciona hábitat y alimento a la fauna silvestre.

#### 3.2.1.6 Usos<sup>11</sup>:

Colorantes [fruto]. La cáscara del fruto produce un tinte de color castaño claro que se usa para pigmentar tejidos de algodón (Guatemala).

Combustible [madera]. Leña y carbón. Buenas características energéticas.

Comestible (fruta, bebidas, dulces) [fruto]. Los frutos frescos son muy apreciados. Se consumen crudos, pero también son materia prima de bebidas refrescantes, licores, jaleas, dulces, nieves, conservas. Rico en vitamina C (90-240 mg /100 g).

Construcción [madera]. Su madera dura y flexible, fuerte y pesada se utiliza en la construcción rural y elementos estructurales.

Curtiente [corteza]. Corteza rica en taninos (17.25-28.6 %), se emplea en la curtiembre.

Forrajero [hoja]. Forraje apetecido por animales domésticos y silvestres.

Maderable [madera]. Madera de color amarillo, sin olor ni sabor de textura fina, lustre mediano e hilo recto. Empleada en muebles, pisos, puertas, marcos para puertas y ventanas, molduras, marcos de cuadros.

Medicinal [corteza, fruto]. La parte que más se usa en la medicina popular es la corteza, ya que por sus propiedades astringentes se emplea en cocimiento como antidiarreico (se toma como agua de tiempo); también se utiliza para infecciones en la matriz e inflamación en los ovarios y otros tipos de desórdenes digestivos como disentería y dolor de estómago. Son muy conocidas las propiedades del nance para curar afecciones de la piel como sarna, salpullido y heridas, mediante el uso de la cocción hecha con éste y

trozos de corteza de cedro; además ha resultado eficaz para afianzar las encías, aliviar el dolor de cintura, resfriado y para las mordeduras de víbora. Corteza, fruto (jugo): astringente. Tallo, Raíz (hervidos): tienen actividad sobre Klebsiella pneumoniae, Staphylococcus aureus, S. Epidermidis, S. Pneumoniae, Micrococcus luteus, E. coli, Salmonella typhi, Pseudomonas aeruginosa, Shigella flexneri, Bacillus subtilis.

Melífera, la flor del nance sirve de alimento a las abejas en la apicultura.

Toda la planta posee las siguientes propiedades: antitusiva, antiasmática, antimicrobiana, antibacteriana, antifúngica, desinflamante, antidiarreica, antifebrífuga.

### 3.2.2 Pithecollobium dulce<sup>12</sup>

Nombre científico y familia: Pithecollobium dulce LEGUMINOSAS

Nombre común: “Mongollano”, “espino blanco”, “guamúchil”, “huamuchil”, “cuamuchil”, “guamoche”, “guamúche”, “guaymochile”, “guamache”, "muchite", "pinzán".

Sinónimos aceptados: Mimosa dulcis; Acacia obliquifolia; Feuillea dulcis (Roxb.) Kuntze; Inga dulcis; Inga javana; Inga leucantha; Inga pungens; Mimosa pungens; Mimosa unguis-cati Blanco; Pithecollobium littorale; Zygia dulcis.

3.2.2.1 Descripción botánica: Es un árbol perennifolio, que se mantiene siempre verde durante todo el año, ya que siempre y en cualquier época, presenta hojas. Alcanza hasta 25 metros de altura y 80 centímetros de diámetro en la parte media del tronco.



Normalmente su tronco o fuste es recto con ramas delgadas y ascendentes y la copa piramidal o alargada. La madera muestra ligeras diferencias en color entre albura y duramen, carece de olor, sabor y su vetado es suave. Presenta una densidad de media a alta (0.45 a 0.6 g/cm<sup>3</sup>). Microscópicamente, la madera presenta poros solitarios y difusos, con un parénquima paratraqueal aliforme y una serie de radios uniseriados y homogéneos. Presenta gomas y cristales en sus contenidos celulares.

Las fibras que componen la madera tienen una longitud promedio de 930 micras, por lo que técnicamente se consideran como "extremadamente cortas". La cáscara o corteza externa es lisa o ligeramente agrietada (fisurada), de color gris plomiza o gris morena; la corteza interna es de color crema claro y se torna parda o rosada con el tiempo, es fibrosa. Las hojas están colocadas en forma espiral, son aglomeradas, teniendo un par de pinas (hojas) que a su vez se dividen en dos hojuelas lisas y de un color verde pálido; miden 2.7 cm de largo incluyendo el pecíolo.

Las flores son blanco verdosas o amarillentas y se producen en cabezuelas como de un centímetro de diámetro dispuestas en forma de racimo. En la región florecen de noviembre a mayo. Los frutos son en forma de vaina hasta de 20 cm de largo y 10 a 15 mm de ancho, enroscados, y pendientes. Las semillas son negras y brillantes, rodeadas por una pulpa carnosa (arilo) blanca, rosada o roja. Los frutos maduran de marzo a julio<sup>12</sup>.



Fig. No. 3 Árbol, flor, hojas y corteza del Mongollano.

3.2.2.2 Ecología y Adaptación: Es nativa de una vasta región que se extiende desde las laderas del Pacífico de México y el sur de California, pasando por América Central hasta Colombia y Venezuela. Se ha plantado y naturalizado ampliamente en muchas regiones tropicales, particularmente en las regiones más cálidas y secas de las Filipinas e India. Se ha introducido en Sudán, Tanzania y otras áreas secas de África tropical. Además se ha plantado comúnmente en el sur de Florida, Cuba, Jamaica, Hawaii, Puerto Rico, lugares donde crece en forma silvestre. Es una especie de amplia distribución en

los límites hídricos de las zonas tropicales del país, que ha sido protegida y propagada por el hombre.

3.2.2.3 Hábitat: Prospera en terrenos planos u ondulados. Es frecuente a la orilla de cauces de arroyos temporales, de carreteras y avenidas y en las viviendas. Crece en una amplia variedad de condiciones climáticas. Clima entre tropical y subtropical, con precipitaciones de 450 a 1,650 mm. Suelos: somero, pobre, pedregosos (basalto), negro-rocoso, aluvial, arenoso, calizo-rocoso, amarillo-arenoso profundo, café-grisáceo, litosol, arcilla negra, eriales de todo tipo.

3.2.2.4 Importancia Ecológica: Reforestación / Restauración. Se ha empleado en plantación urbana (Durango). Es una especie con potencial para reforestación productiva en zonas degradadas de selva y zonas secas y áridas de muchos países (México, Pakistán, África).

Cultivo: El tiempo en que alcanza la talla óptima para su trasplante es de 4 meses. Tolera bien el corte o poda. Su semilla tiene un mayor poder germinativo y no requiere de tratamientos especiales para su desarrollo y propagación.

Propagación:

Reproducción asexual. 1. Cultivo de tejidos. Se ha probado exitosamente la propagación de la planta a partir de protoplasto aislado como una técnica de mejoramiento. El protoplasma tiene la categoría de recalcitrante. 2. Cortes de tallo. 3. Brotes o retoños. Excelente habilidad para rebrotar. 4. Acodo aéreo.

Reproducción sexual. 1. Siembra directa. 2. Regeneración natural. 3. Semilla (plántulas).

Se propaga fácilmente por semilla.

Efecto Restaurador / Servicio al Ambiente: Efecto(s) restaurador(es). 1. Fijación de nitrógeno. 2. Fijación de dunas. 3. Recuperación de terrenos degradados. 4. Acolchado / Cobertura de hojarasca. 5. Mejora la fertilidad del suelo / Barbecho. 6. Conservación de suelo / Control de la erosión.

Servicio(s) al ambiente. 1. Barrera rompevientos. 2. Ornamental. Se siembra a orilla de carreteras por sus frutos de color atractivo. En Florida se ha abandonado su uso como ornamental debido a que es espinoso y a que contiene una savia irritante a los ojos y a la piel. 3. Sombra / Refugio. Se cultiva a menudo en los huertos y potreros como árbol de sombra. Con podas regulares forma setos densos espinosos casi impenetrables que mantienen alejado al ganado. Fuente de alimento para la fauna silvestre. 4. Cerca viva en los agrohábitats.

3.2.2.5 Usos: Árboles en linderos, árboles de sombra en cafetales o dispersos en pastizales (Filipinas). Se le cultiva en el huerto familiar (Puebla) y en el monte alto.

Adhesivo [exudado (látex)]. Del tallo se extrae goma que da buen mucílago, similar a la goma arábica.

Aromatizante [toda la planta]. Aceites esenciales aromáticos.

Colorantes [corteza]. Produce un tinte amarillo.

Combustible [madera]. Leña y carbón. Alto valor calorífico: 5,500 Kcal/Kg. Produce bastante humo.

Comestible (aceite, fruto, bebidas) [fruto, semilla (arilo)]. El arilo carnosos agridulce que rodea a la semilla es sumamente apreciado en algunos lugares como complemento alimenticio. Se elaboran bebidas refrescantes (parecida a la limonada). Semillas comestibles. La semilla contiene 10 % de aceite verdoso que se refina y clarifica y 28 % de proteína.

Construcción [madera]. Construcción rural (viviendas) y en general, por su madera dura y pesada.

Cosmético / Higiene [semilla (aceite)]. La semilla contiene 10 % de grasa y tiene una aplicación en la jabonería.

Curtiente [corteza]. La corteza es rica en taninos (15 a 32 %), útil en la industria de los curtientes.

Forrajero [fruto (vainas), hoja, tallo joven, semilla]. Las vainas, ramillas y hojas se usan como forraje en época seca para el ganado bovino, caballar, ovino y caprino. El residuo de la semilla (una vez extraído el aceite) es rico en proteínas (30 %) y lo consume el ganado. Tiene una gran cantidad de espinas.

Maderable [madera]. Postes de cerca y carpintería en general. La madera es pardo-rojiza, dura y pesada con textura fina, grano entrecruzado, de buen pulimento, pero quebradiza, difícil de trabajar.

Medicinal [corteza, hoja, tallo, fruto, toda la planta, semilla]. Corteza: astringente, disentería. Hoja: bilis (cataplasmas con alcohol), antiabortivo. Tallo: sangrado de encías, dolor de muelas. Planta: balsámico, diarrea crónica, tuberculosis, hemorragias. Pulpa: astringente, hemostática, para la hemoptisis. Semilla (polvo): limpia las úlceras internas.

Melífera, la flor del nance sirve de alimento a las abejas en la apicultura; se produce miel de buena calidad.

Tutor [tronco]. Tutor de cultivos.

Otros. Postería, artesanías, mangos y cabos de herramientas. También por su contenido en celulosa (68%) presenta alternativas como material celulósico.

### 3.2.3 Murraya paniculata<sup>3</sup>

Nombre científico y familia: Murraya paniculata RUTÁCEAS

Nombre común: Jasmín de Persia, muraya, murallera, mirto, mirto criollo.

Sinónimos: Chalcas paniculata L.

3.2.3.1 Lugar de origen: Especie nativa del Sureste de Asia, desde la China a Japón y Malasia.

Etimología: Murraya, dedicado a Johann Andreas Murray (1740-1791), profesor de medicina y botánica sueco, discípulo de Linneo. Paniculata, del latín paniculatus-a-um, con flores dispuestas en panículas.

3.2.3.2 Descripción: Arbusto o arbolillo siempre verde de 3-5 m de altura, con la corteza lisa, sin espinas, glabro en todas sus partes. Hojas alternas, pinnadas, con 3-9 folíolos alternos, ovalados, de 3-5 cm de longitud y 1,5-2 cm, de anchura, obtusos en el ápice y con la base cuneada. El margen es entero, el haz de color verde oscuro brillante y el envés algo más claro. Al estrujarlos desprenden buen olor debido a las glándulas con aceites esenciales que poseen y que se aprecian a trasluz; además de poseer taninos

(15.6%). Flores pentámeras de color blanco en compactos racimos terminales o axilares. Son fragantes, bisexuales, de 1,2 cm de diámetro. El fruto es una baya redondeada, rojiza, de alrededor de 1 cm de diámetro, conteniendo 1-2 semillas.

Cultivo: Se multiplica por semillas y por esquejes. Requiere suelos de tipo medio, fértiles y bien drenados, no tolerando las sales. Exposición soleada o media sombra. Sensible a ataques de cochinillas y nemátodos. Es especie utilizada en las técnicas del bonsai. La plantación resulta llevada a cabo en el periodo de mayo – octubre lo que garantiza un abundante abastecimiento de agua. Siendo la mejor época entre marzo – mayo.



Fig. No. 4 Flor, frutos y hojas del Mirto.

3.2.3.3 Usos: En odontalgias, hipotensor, antídoto contra el veneno de mordedura de serpientes. Como follaje complementario en arreglos florales; posee también utilización jardinera y es muy apropiada para la formación de setos.<sup>3</sup>

### 3.3 RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS VEGETALES

La recolección de las muestras vegetales, tal es el caso de las hojas es realizada cuando las flores están empezando a abrirse, o sea, cuando el florecimiento está llegando a su cenit; por lo que la planta se encuentra en su máximo vigor, en consecuencia las hojas se encuentran en su estado de salud adecuado conteniendo una cantidad óptima de los productos del metabolismo de las plantas y que, por ende, este período de su desarrollo será el mas conveniente para que ejerzan la acción terapéutica más deseable. Esta recolección debe realizarse siempre que sea posible en tiempo seco, ya que las hojas en tiempo húmedo se deterioran en su calidad y son propensas a mancharse durante su desecación; estas deben secarse cuidadosamente con el fin de que conserven su color verde fresco y de evitar la descomposición de los constituyentes activos.<sup>23</sup>

En el caso de las cortezas su recolección es realizada a principios de verano o en la época de lluvias, es durante ellas cuando se recolecta con más facilidad. Para desgarrar la corteza se producen incisiones longitudinalmente a intervalos, en torno de la circunferencia del tallo y la corteza se arranca en trozos largos, o también pueden realizarse incisiones longitudinales y horizontales a intervalos de unos 30 cm y se arrancan los trozos.<sup>23</sup>



### 3.4 SECADO DE MUESTRAS VEGETALES

El material que va a secarse se extiende sobre las rejillas metálicas (mesa de secado), el aire al ser aspirado a través de una cámara se calienta por medio de celdas solares para luego ser impulsado mediante el uso de ventiladores hacia la mesa donde se encuentra el material a secar. El almacenamiento de las cortezas y hojas ya procesadas deberá hacerse en un lugar fresco, sin humedad y protegido de la luz; antes de empaquetarlas suelen almacenarse sueltas en contenedores, barriles o sacos en las cámaras de secado.

### 3.5 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS TÁNICAS

Frecuentemente es una operación que debe llevarse a cabo cuidadosamente para no incurrir en errores. Un molino de acero es el mejor medio para reducir las materias ricas en taninos a polvo grosero. Con excepción de las cortezas, estos polvos pueden obtenerse por medio de tamices finos, teniendo especial cuidado en evitar la pérdida del polvo.

### 3.6 EXTRACCIÓN DE TANINOS

Von Schroeder y Bartel investigaron el efecto de la ebullición prolongada en la extracción de taninos y considera que si se emplea un volumen suficiente de agua, bastan unas pocas horas de ebullición para extraer la mayor parte del tanino.

Una ebullición prolongada extrae componentes no taninos, por consiguiente, no es recomendable prolongar la extracción demasiado tiempo, puesto que la calidad del producto total sería deteriorada por el exceso de componentes no tánicos.

La extracción de materias tánicas se efectúa mejor tratando la muestra de una sola vez con una cantidad grande de agua, que con tratamientos sucesivos con cantidades menores. La temperatura del agua debe ser 60°, aunque puede calentarse a 82° para la extracción de taninos de las cortezas; se recomienda conservar la temperatura por debajo del punto de ebullición del agua, pues al hervir se propicia la precipitación de compuestos insolubles con la consecuente pérdida de taninos y oscurecimiento del producto.<sup>6,18</sup>

La extracción de taninos vegetales a nivel industrial comprende cinco fases:

- a. Molienda
- b. Extracción: Difusión en tanque abierto, colado o cocción.
- c. Filtrado por filtros prensa con lonas finas.
- d. Decoloración: Directa o por dióxido de azufre.
- e. Evaporación se realiza en tanques abiertos o cerrados con calentamiento directo o vapor.

### **3.7 MÉTODOS ESPECTROSCÓPICOS DE ANÁLISIS**

Los métodos espectroscópicos de análisis se basan en la medición de la radiación electromagnética emitida o absorbida por los analitos.

Los métodos espectroscópicos también son clasificados de acuerdo con la región del espectro electromagnético que se utiliza. Estas regiones incluyen: los rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas y radiofrecuencias.

Históricamente los primeros métodos espectroscópicos se restringían al uso de la radiación visible; por esta razón se denominaron métodos ópticos. Sin embargo, debido a que los instrumentos empleados en estos métodos tienen alguna similitud esta terminología se ha ampliado a los métodos que utilizan la radiación ultravioleta e infrarroja a pesar de que el ojo humano no percibe ninguno de estos tipos de radiación.<sup>24</sup>

### 3.7.1 Absorción de la Radiación Ultravioleta y Visible

La absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible consiste en bandas formadas por líneas que están muy cerca unas de otras. Una molécula verdadera tiene, sin embargo muchos más niveles de energía vibracional que los que se muestran aquí; por lo que las bandas de absorción comunes están constituidas por numerosas líneas. Puesto que en una solución las especies absorbentes están rodeadas por moléculas de disolvente, se pierden las características de la banda de absorción molecular por que las colisiones tienden a hacer más difusas las energías de los estados cuánticos originando picos de absorción uniformes o continuos.

#### 3.7.1.1 Espectrofotómetros Ultravioleta / visible

La espectroscopia de absorción molecular ultravioleta / visible se emplea principalmente para el análisis cuantitativo y es uno de los métodos más comunes usados en laboratorios químicos y clínicos.

Los espectrofotómetros emplean una rejilla o un prisma monocromador para proporcionar una banda angosta de radiación para las mediciones. Además, ofrecen la

ventaja de que la longitud de onda que se usa se puede variar continuamente, haciendo así posible el registro de todo el espectro de absorción.<sup>24</sup>

Algunos instrumentos están diseñados sólo para la región visible otros cubren la región ultravioleta / visible y unos pocos ultravioleta / visible así como la cercana al infrarrojo.

### 3.7.2 Características Importantes de la espectroscopía ultravioleta / visible cuantitativa.

Tenemos la amplia aplicabilidad en sistemas orgánicos, inorgánicos y bioquímicos; buena sensibilidad, límites de detección de  $10^{-4}$  a  $10^{-7}$  M; selectividad de moderada a elevada; exactitud y precisión razonables (errores relativos en el intervalo de 1-3% con técnicas especiales, tan bajos como unos cuantos decimos de uno por cien); rapidez y conveniencia. Además los métodos espectrofotométricos son fácilmente automatizados.<sup>24</sup>

Las aplicaciones de los métodos de espectrofotometría molecular son numerosas y variadas, es uno de los más poderosos y más utilizados para el análisis cuantitativo. Se aplica tanto a especies que absorben como a las que no, a estas últimas se hace reaccionar con reactivos cromofóricos para producir sustancias que absorben fuertemente en las regiones ultravioleta y visible.

## 3.8 MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TANINOS<sup>8</sup>

Existe un método de cuantificación de taninos utilizando la espectrofotometría ultravioleta-visible donde las muestras son leídas a una longitud de onda de máxima absorbancia de 700nm y su absorbancia referida a ácido tánico. Este método se basa en

la reacción de los compuestos fenólicos con el reactivo de Folin (tungsto-fosfomolibdico; carbonato de sodio al 20%), el cual produce un complejo de color azul, cuya extinción es medida a una longitud de onda de 700nm, determinando el contenido total de fenoles en el extracto acuoso. Posteriormente se utiliza una solución de gelatina al 25% para garantizar el secuestro de los taninos, se adiciona una solución de Cloruro de Sodio acidificada para reducir el exceso de gelatina, y luego caolín para ayudar al precipitado de gelatina y taninos a ir hacia el fondo y facilitar el filtrado; y se hace la determinación de fenoles residuales. Obteniéndose de la diferencia de ambas determinaciones el porcentaje de taninos reportados como ácido tánico.

### **3.9 PARÁMETROS ESTADÍSTICOS<sup>13</sup>**

Las características del método de análisis se establecen mediante datos estadísticos llamados también parámetros estadísticos utilizándolos para obtener un mejor diseño experimental, documentación y conveniencia permitiendo alcanzar los fines establecidos para éste; por lo tanto se describen a continuación los parámetros seleccionados para demostrar las características del método analítico.

3.9.1 Exactitud: Mide la magnitud del error sistemático<sup>4</sup>. Para el estudio de la exactitud se aplica la prueba "t" de student para determinar si existen diferencias significativas entre la recuperación media y el 100% y si el factor concentrado tiene alguna influencia en los resultados. Las absorbancias obtenidas en las curvas de calibración se corrigen

aplicando el método de mínimos cuadrados. Los datos se presentan en una tabla como la descrita a continuación:

TABLA XX: ABSORBANCIA vrs CONCENTRACIÓN

CONCENTRACIÓN µg/mL	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA CORREGIDA
a=		
b=		
r=		

Donde  $Y = a + bX$       a = intercepto    b = pendiente

La concentración de la muestra (X) se calcula mediante la utilización de la ecuación de la línea recta; aunque también puede determinarse por interpolación en un gráfico absorbancia corregida contra concentración; colocándose en una tabla similar a la siguiente.

TABLA XX: ABSORBANCIA vrs CONCENTRACIÓN

NUMERO DE MUESTRAS	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN DE MUESTRA • µg/mL
1		
2		
3		
4		
5		
6		

• Obtenida por interpolación en la curva de calibración y por la ecuación de la línea recta

TABLA XX: PROCESAMIENTO DE DATOS\*

NUMERO DE MUESTRAS	CANTIDAD ENCONTRADA	CANTIDAD RECUPERADA	PORCENTAJE DE RECUPERACION (%)
1			
2			
3			
4			
5			
6			

X =
S =
CV =
% error =

TABLA XX: RESULTADOS DEL PARÁMETRO DE EXACTITUD\*

FACTOR DE DILUCIÓN (FD)	
CANTIDAD ORIGINAL EN LA MUESTRA	
CANTIDAD ADICIONADA	
GRADO DE EXACTITUD (%)	
t TABULADO	
t CALCULADO	
LIMITES DE CONFIANZA SUPERIOR	SUPERIOR
	INFERIOR

Donde:

Cantidad encontrada = concentración interpolada \* FD

Cantidad recuperada = cantidad encontrada – cantidad adicionada

Porcentaje de recuperación = cantidad recuperada/ cantidad original \* 100

% error = (valor teórico - valor experimental) / valor teórico \* 100

\* Los cálculos se reportan en el anexo 9

Grado de exactitud = 100 - % error

La t student es utilizada para comprobar si existe o no diferencia estadística significativa entre las repeticiones.

$$t \text{ calculada} = |X - \mu| / (S * \sqrt{N})$$

donde: X = el promedio de los porcentajes de recobro

S = desviación estándar de los porcentajes de recuperación

$\mu$  = valor del estándar de referencia

N = número de repeticiones

$$\text{Coeficiente de variación (CV)} = (S / X) * 100$$

El valor obtenido es comparado con el valor reportado en tablas de distribución t student al 95% para n-1 grado de libertad (ver anexo 13).

Criterio:

Si t calculado es menor que el valor de t tabulado no existe diferencia estadística significativa.

Si t calculado es mayor que el valor de t tabulado existe diferencia estadística significativa.

Si t calculado es mayor que el valor de t tabulado se procede a determinar el valor a otro nivel de confianza con el objeto de mostrar una alternativa confiable bajo todos los cuestionamientos.

Determinar los límites de confianza (L.C.) mediante la siguiente expresión:

$$\text{L.C.} = X \pm [t \text{ tabulada} * S/\sqrt{N}]$$



3.9.2 Precisión: describe el tamaño de los errores aleatorios<sup>4</sup>, Coeficiente de variación o Desviación Estándar Relativa (dsr). Cálculo de la Desviación Estándar al promedio de lecturas de absorbancia, el resultado debe ser menor del 5% (resultado < 5%).

3.9.3 Límite de Cuantificación: es la concentración más baja de analito en una muestra que puede ser determinada cuantitativamente con un nivel aceptable de precisión y exactitud. El valor de este es 10 veces la Desviación Estándar entre la varianza de las absorbancias del estándar de menor concentración.

$$LQ = 10 S/\sigma$$

Donde :

S = desviación estándar

$\sigma$  = varianza

3.9.4 Reproducibilidad: Precisión esperada para la medición de un analito en una muestra correspondiente al 100% efectuada por 2 analistas, 3 días diferentes, y con un mismo instrumento.

TABLA XX: ESQUEMA PARA EL PROCESAMIENTO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL METODO ANALITICO A UNA CONCENTRACIÓN DE 4 ppm DE ACIDO TANICO

Analista Día	1	2	$\bar{X}$	$\Sigma x$	$\Sigma X^2$	S	CV %
1							
2							
3							
$\bar{X}$							
$\Sigma x$							
$\Sigma x^2$							
S							
CV %							

TABLA XX: PLANTEAMIENTO DE LA ANOVA ORIGINADA \*

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
DÍAS	I	V	IX	XII	XIV	XVI	XVIII	XIX
ANALISTAS	II	VI	X	XIII	XV	XVII		
ERROR	III	VII	XI					
TOTAL	IV	VIII						

Donde :

$$I = a-1$$

$$II = b-1$$

$$III = (a-1)(b-1)$$

$$IV = ab-1 = [(a-1)+(b-1)] + (a-1)(b-1)$$

\* Los cálculos se reportan en el anexo 9

$$V = \frac{(\sum X_{t1})^2 + (\sum X_{t2})^2 + (\sum X_{t3})^2}{b} - C$$

$$VI = \frac{(\sum X_{a1})^2 + (\sum X_{a2})^2}{a} - C$$

$$VII = VIII - V - VI$$

$$VIII = \sum X^2_{TOTAL} - C$$

$$IX = V / I$$

$$X = VI / II$$

$$XI = VII / III$$

$$XII = IX / XI$$

$$XIII = X / XI$$

XIV = Valor de la tabla de distribución F al 1% (anexo 14), entrando con I por la parte superior y con III por el lado izquierdo

XV = Valor de la tabla de distribución F al 1% (anexo 14), entrando con II por la parte superior y con III por el lado izquierdo

XVI = Valor de la tabla de distribución F al 5% (anexo 15), entrando con I por la parte superior y con III por el lado izquierdo

XVII = Valor de la tabla de distribución F al 5% (anexo 15), entrando con II por la parte superior y con III por el lado izquierdo

XVIII = Representa la decisión de acuerdo al resultado bajo los siguientes criterios:

Si XII es mayor que XIV y XVI o XII es mayor que XV y XVII, existe diferencia

estadística significativa (EDES)

Si XII es menor que XIV y XVI o XII es menor que XV y XVII, no existe diferencia estadística significativa (NEDES)

Si XII o XIII son mayores que XVI o XVII; pero menores que XIV y XV respectivamente, existe diferencia estadística significativa (EDE)

$$XIX = \frac{\sqrt{XI}}{\bar{X}_{\text{total}}} * 100$$

a = número de tratamientos

b = número de analistas

C = factor de corrección

$$C = \frac{(\sum X_{t_1})^2}{\text{Número total de datos}}$$

La interpretación y decisión del análisis de ANOVAS, viene dado por el siguiente cuadro:

Tabla XX. Interpretación de análisis de ANOVA

		CONCENTRACIÓN (x)					
		ERROR EXPERIMENTAL (%)					
FACTOR DE VARIACIÓN	DÍAS	F CALCULADA					
		RESULTADO F AL 1%					
		RESULTADO F AL 5%					
	ANALISTAS	F CALCULADA					
		RESULTADO F AL 1%					
		RESULTADO F AL 5%					
			DECISIÓN				

3.9.5 Método de prueba para la diferencia de medias de poblaciones independientes con varianzas distintas.

Es una metodología que permite probar las diferencias en las medias de varios grupos y es clasificada bajo el título general de análisis de varianza o ANOVA; aunque es considerada un modelo ANOVA completamente aleatoria o en un sentido que sólo tiene un factor con varios grupos. Para probar si varios grupos tienen todos el mismo promedio de población, se expresan las hipótesis nula y alternativa en la siguiente forma:

$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 \dots = \mu_c$

$H_1 : \text{No todas las medias son iguales} (\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3)$

La regla de decisión para rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) se basa en que la F calculada es mayor que la F tabulada. Pero para determinar la diferencia entre las medias es necesario realizar una serie de cálculos descritos a continuación:

Tabla XX: Cantidad de taninos en gramos presentes en las muestras de las especies vegetales en estudio.

	NANCE (g)	MONGOLLANO (g)	MIRTO(g)
$\mu$ (media)			
$X^2_{ij}$			
$T_j$			
$T^2_j$			
GT			

Tabla XX: Datos para el análisis de varianza para las muestras de las especies vegetales en estudio.

SSB	
SSW	
SST	

c-1	
n-c	
MSB	
MSW	
F calculada	

$$SSB = \sum(T_j)^2 / n_j - (GT)^2 / n$$

$$SSW = \sum \sum (X_{ij})^2 - \sum(T_j)^2 / n_j$$

$$SST = \sum \sum (X_{ij})^2 - (GT)^2 / n$$

$$MSB = SSB / (c - 1)$$

$$MSW = SSW / (n - c)$$

$$F_{df1, df2} = MSB/MSW$$

DONDE:

$\sum \sum (X_{ij})^2 =$  la suma de los valores elevados al cuadrado de los datos

SSB = variación entre grupos

$T_j =$  suma de los valores en el grupo j

$n_j =$  tamaño de la muestra

GT = gran total (la suma de todos los valores)

n = tamaño de la población

SSW = variación dentro de grupos

SST = Variación total

MSB = media cuadrada entre grupos

MSW = media cuadrada interna

c = total de grupos

$F_{df1, df2} =$  distribución F calculada

#### **IV. DISEÑO METODOLOGICO**



## **4.0 DISEÑO METODOLOGICO**

### **4.1 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA**

La investigación bibliográfica fue realizada en la Biblioteca de la Facultad de Química y Farmacia y en la Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador, permitiendo la recopilación de algunos antecedentes bibliográficos; aunque se dejó entrever la falta de información que se relaciona con el tema seleccionado por lo que se recurrió a utilizar otro instrumento de recopilación bibliográfica como es el Internet, el cual nos permitió una mayor recolección de información sobre el tema seleccionado.

### **4.2 INVESTIGACIÓN DE CAMPO**

#### **4.2.1 Planteamiento de la investigación**

Se consideró como una investigación de tipo experimental y retrospectiva por tener como objeto de estudio la manipulación de una variable experimental no comprobada en condiciones rigurosamente controladas y además de poseer un carácter exploratorio pues se realizó con el propósito de obtener datos fieles y seguros para la sistematización de estudios futuros.

#### 4.2.2 Tipo de Muestreo

Se seleccionaron las especies vegetales con base en los antecedentes bibliográficos encontrados. Para la recolección de muestras se empleó un muestreo por conglomerados, éste consiste en dividir a la población en sectores (conglomerados) y muestrear aleatoriamente uno de ellos y una vez seleccionados, estudiar todos los elementos de la población<sup>19</sup>; la aplicación en este caso es dividir en sectores el territorio nacional para luego seleccionar uno de ellos donde se recolectan las muestras de dicha especie.

#### 4.2.3 Recolección de muestra

La recolección de las muestras se llevó acabo en un periodo de dos meses.

Lugar de recolección:

- Nance: Reparto Los Ángeles, Apopa, zona norte del municipio de San Salvador.
- Mongollano: Universidad de El Salvador, zona norte del municipio de San Salvador.
- Mirto: Santo Tomás, zona sur del municipio de San Salvador.

Forma de recolección:

Para el nance como para el Mongollano se colectó la corteza con la diferencia que para el Mongollano se recolectó corteza joven y adulta. El método consistió en desprender del árbol tiras de corteza verticalmente, dejando otra parte intacta, es decir haciendo un desprendimiento parcial, de esta manera se puede servir por mucho tiempo del mismo

árbol. El mirto se trató de manera diferente pues, de él se colectó las hojas adultas sanas, sin ningún tipo de mancha o picadura.

#### 4.2.4 Limpieza, secado y pulverizado de las muestras

Las muestras recolectadas fueron sometidas a un procedimiento de limpieza, mediante la utilización de brochas y pinceles para eliminar residuos de polvo y suciedad que pudieran interferir en el análisis. Luego se procedió al secado de las muestras mediante la utilización de un secador solar. Para extraer los taninos la muestra debe estar bien dividida, puede usarse pulverizado como en este caso, o en virutas. El molino que se empleó es un molino de martillo.

#### 4.2.5 Determinación de la humedad presente en las muestras

De las muestras ya secas y pulverizadas se toma un gramo exactamente pesado y cada una, se coloca en un equipo de semimicrodeterminación de agua donde se establece el porcentaje de humedad presente en la muestra, de igual forma también proporciona el tiempo y la temperatura a la cual se ha realiza la determinación; permitiendo finalmente realizar los cálculos para obtener las concentraciones en base seca para cada muestra analizada.

### 4.3 INVESTIGACIÓN DE LABORATORIO

#### 4.3.1 Pruebas físico-químicas del estándar de referencia ácido tánico.

Se seleccionaron algunos de los ensayos de la monografía del ácido tánico<sup>21</sup> (ver anexo7).

Cantidad de Ácido tánico	Ensayo seleccionado	Resultado Esperado <sub>15</sub>
2 mL de la solución de ácido tánico (1 en 10 )	Solución de Tricloruro de Hierro TS	Coloración azul oscura o negra
2 mL de la solución de ácido tánico (1 en 10 )	Solución de gelatina (1 en 100 )	Precipitado blanco
1 g de ácido tánico	Pérdida por secado	No más del 12%
2g de ácido tánico en 10mL de agua caliente	Goma o Dextrina	Solución ligeramente turbia
2g de ácido tánico en 10mL de agua caliente, dividida en 2 partes iguales	Sustancias Resinosas	Con alcohol no se produce turbidez
		Con agua no se produce turbidez

#### 4.3.2 Elaboración de la Curva de calibración.

Se trabajó con un método analítico de espectrofotometría ultravioleta-visible con el fin de la obtención de una curva de calibración para determinar el contenido de taninos, para dar la mayor certeza y respaldo a este método.

En la curva de calibración se empleó como sustancia de referencia estándar de ácido tánico puro para análisis marca Merck. Se pesó con precisión 25 mg de estándar ácido tánico, se transfirió a un matraz aforado de 100 mL y se completó el volumen con agua destilada. Posteriormente se midió exactamente 20 mL se transfirió a un matraz aforado

de 100 mL y se llevó a volumen con agua destilada. De la solución anterior se prepararon diluciones de 4, 8, 10, 12 y 16 ppm. Se utilizó como blanco agua destilada.

Tabla No. 1 Alicuotas tomadas de la solución patrón (50  $\mu\text{g/mL}$ )

Alicuota tomada (mL)	Concentración de estándar de Ácido
2	4
4	8
5	10
6	12
8	16

Desarrollo de color. A cada matraz aforado de 25 mL con las respectivos patrones y blancos, se le añadieron 2 mL de solución tungsto-fosfomolibdico (ver anexo 4), se agitó y se dejó reposar durante 5 min. Luego se añadió 1 mL de solución de carbonato de sodio al 20 %, se agitó, se llevó a volumen con agua destilada y homogenizó. Se leyó la absorbancia de dichas soluciones a una longitud de onda de 700 nm después de transcurridos 2 min. La curva de calibración se realizó cuatro veces. (Ver anexo 3)

#### 4.3.3 Extracción de taninos y determinación de tiempo óptimo para la extracción de taninos.<sup>9</sup>

Se colocaron en un balón de fondo redondo de 1000 mL, 50 gramos de muestra de corteza adulta de Mongollano\* previamente secada y pulverizada, agregando un

---

\* existe con mayor abundancia y accesibilidad para la recolección razón por la cual fue seleccionado.

volumen de agua destilada suficiente para cubrir la muestra; posteriormente se procedió a reflujar, y se filtro en caliente.

Para determinar el tiempo óptimo de extracción se realizaron extracciones a diferentes tiempos y se cuantificó el tanino obtenido en ese extracto. Una vez determinado el tiempo óptimo se realizaron las extracciones de las otras dos especies vegetales restantes. (Ver anexo 3)

#### 4.3.4 Análisis Fitoquímico:

Luego de obtener el extracto filtrado se procedió a realizar el análisis fitoquímico preliminar:

Cantidad de Extracto	Prueba Fitoquímica de Identificación de Taninos <sup>23</sup>	Resultado Esperado <sup>23</sup>
2 mL del Extracto	Solución de Tricloruro de Hierro	Coloración azul oscura o negra
2 mL del Extracto	Solución de Subacetato de plomo	Precipitado blanco abundante
2 mL del Extracto	Solución de Dicromato de potasio	Precipitado coloreado
2 mL del Extracto	Solución de gelatina al 25%	Precipitado blanco

#### 4.5 MÉTODO DE CUANTIFICACIÓN DE TANINOS COMO ÁCIDO TÁNICO

Durante el desarrollo del método se utilizaron cuatro muestras de los extractos de las diferentes especies vegetales en estudio. El método consta de 2 etapas:

Etapa I: Cuantificar los polifenoles totales en el extracto acuoso (ver anexo 3).

Etapa II Cuantificar los polifenoles residuales después del secuestro de los taninos con gelatina. (ver anexo 3).

Desarrollo de color y lectura de Absorbancia

Luego de preparar las soluciones muestra y blancos respectivos a cada etapa se empleó el mismo tratamiento que se utiliza en los estándares y blancos de la curva de calibración posteriormente descrita (ver anexo 3).

#### 4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Se realizó por el método de prueba para la diferencia de medias de poblaciones independientes con varianzas distintas, con un nivel de confianza del 95%. Partiendo de la hipótesis nula de que no existen diferencias significativas entre las concentraciones de taninos provenientes de las especies vegetales en estudio y con la hipótesis alternativa que existen diferencias significativas entre las concentraciones de taninos provenientes de las especies vegetales en estudio.

Además se establecieron las características del método analítico con el fin de obtenerse un diseño experimental óptimo con los mínimos recursos materiales de esfuerzo y tiempo mediante la determinación y utilización de los parámetros estadísticos para la curva de calibración del estándar de referencia ácido tánico, siguientes: precisión, exactitud, límite de cuantificación y reproducibilidad

## **V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**



## 5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 5.1 IDENTIFICACIÓN DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA ÁCIDO TÁNICO

Tabla No. 2 Resultado del análisis de identificación del estándar de referencia ácido tánico.

Cantidad de Ácido tánico <sup>21</sup>	Ensayo seleccionado <sup>21</sup>	Resultado Esperado <sup>21</sup>	Resultado Obtenido
2 mL de la solución de ácido tánico (1 en 10)	Solución de Tricloruro de Hierro TS	Coloración azul oscura o negra	Coloración azul oscura
2 mL de la solución de ácido tánico (1 en 10)	Solución de gelatina (1 en 100)	Precipitado blanco	Precipitado blanco abundante
1 g de ácido tánico	Pérdida por secado	No más del 12%	11.27%
2g de ácido tánico en 10mL de agua caliente	Goma o Dextrina	Solución ligeramente turbia	Solución ligeramente turbia
2g de ácido tánico en 10mL de agua caliente, dividida en 2 partes iguales	Sustancias Resinosas	Con alcohol no se produce turbidez	No hubo turbidez
		Con agua no se produce turbidez	No hubo turbidez

Los resultados de las pruebas de identificación anteriormente descritas establecen que el estándar de referencia de ácido tánico se ubica dentro de las especificaciones dadas en la monografía de la USP 24.

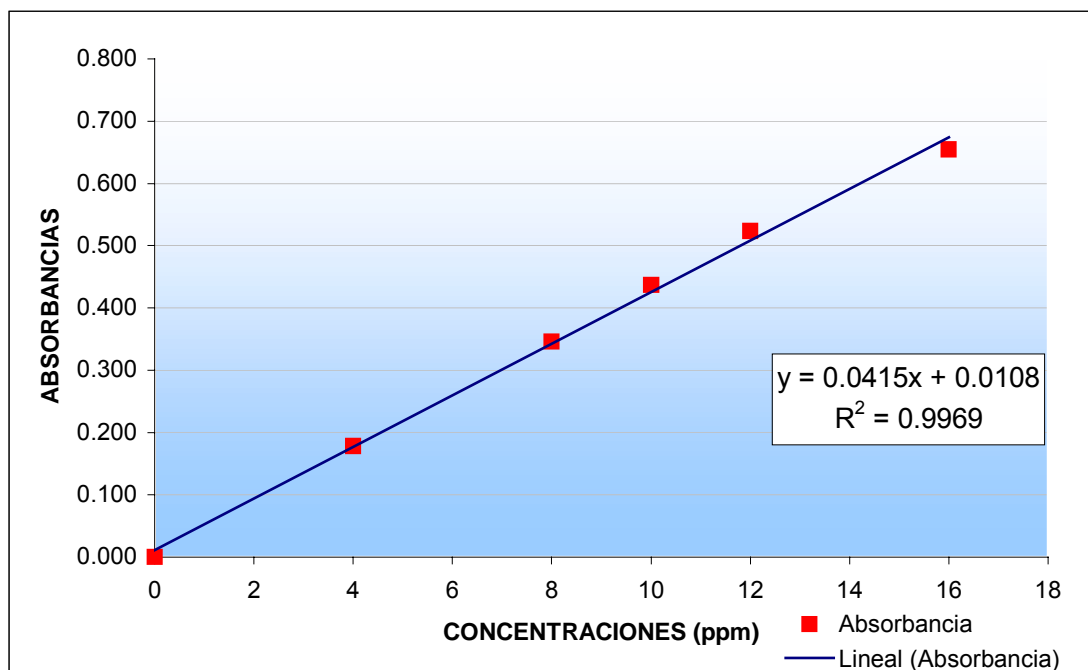
## 5.2 RESULTADOS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Siguiendo el procedimiento descrito en el numeral 4.4.2. Obtener los valores (tabla No. 3). Luego proceder a elaborar la respectiva gráfica Absorbancia vrs Concentración de los valores obtenidos (ver grafica 1.1) Realizar la curva de calibración cuatro veces (ver anexo 8).

Tabla No. 3 Resultados de las absorbancias de las curvas de calibración

Concentraciones ppm	Absorbancias de la curva No. 1	Absorbancias de la curva No. 2	Absorbancias de la curva No. 3	Absorbancias de la curva No. 4	Absorbancias de la curva promedio
4	0.160	0.180	0.196	0.177	0.178
8	0.309	0.360	0.366	0.349	0.346
10	0.409	0.453	0.452	0.433	0.437
12	0.495	0.531	0.538	0.528	0.523
16	0.614	0.671	0.662	0.668	0.654

GRAFICA N° 1.1 Curva de calibración promedio del estándar de referencia ácido tánico.



### 5.3 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO PARA LA EXTRACCIÓN DE TANINOS PRESENTE EN LA CORTEZA ADULTA DE Pithecollobium dulce (MONGOLLANO).

Proceder según lo descrito en el numeral 4.4.3. <sup>1</sup>

---

<sup>1</sup> El tiempo de extracción de las muestras restantes será de 60 minutos que es el tiempo óptimo que se determinó según los resultados presentados en la tabla N° 4 y gráfica N° 2

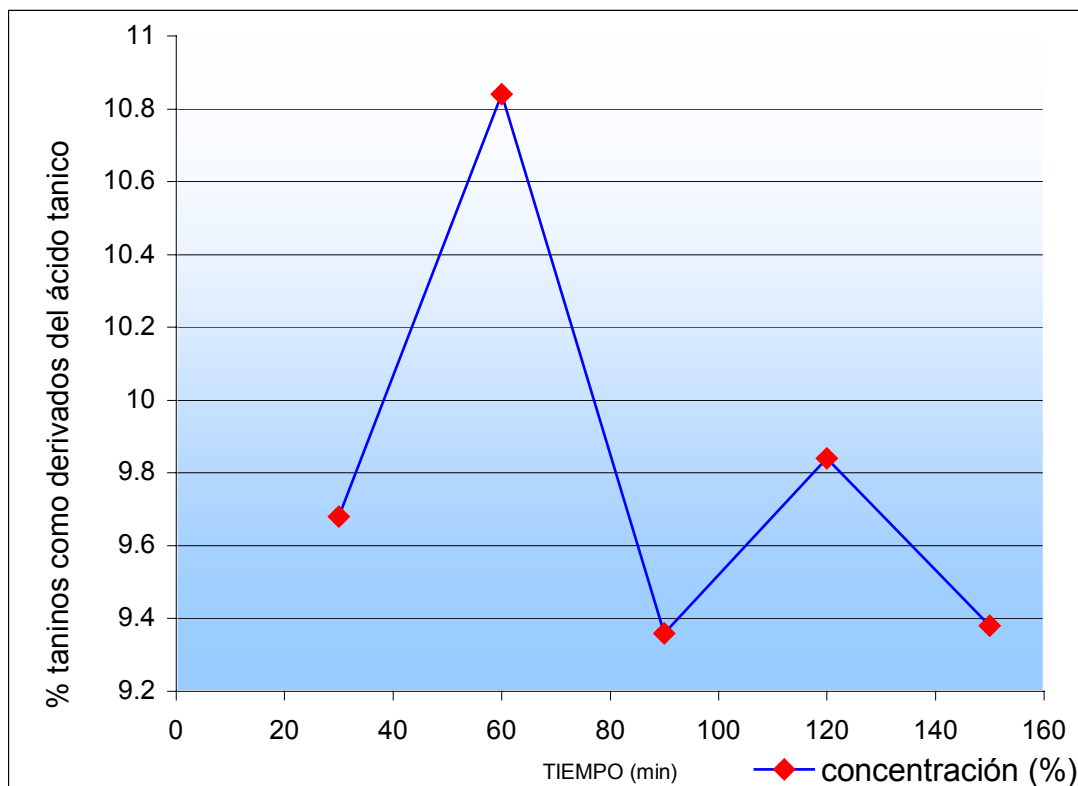
Tabla No. 4 Absorbancias de las muestras del extracto de Mongollano obtenidas en la determinación del tiempo óptimo de extracción

Muestra	Tiempos de extracción de las muestras (min)	Absorbancias		Y (Diferencia de las absorbancias)	X [Concentración (ppm)] $X = [(y - 0.0108) / 0.0415] * 250000$	X [Concentración (g)]	% taninos = $[(1 * X(g)) / 50 g] * 100$
		Etapa I	Etapa II				
1	30	0.888	0.074	0.814	4838554.22	4.84	9.68
2	60	1.002	0.092	0.91	5416867.47	5.42	10.84
3	90	0.881	0.094	0.787	4675903.614	4.68	9.36
4	120	0.897	0.08	0.817	4921686.75	4.92	9.84
5	150	0.877	0.099	0.778	4686746.99	4.69	9.38

Tabla No. 4.1 Concentración de taninos en base seca en la corteza adulta de Mongollano obtenidas en la determinación del tiempo óptimo de extracción.

Concentración (base húmeda) (%)	10.84
Humedad promedio %	6.64
Concentración (base seca) (%)	17.48

Gráfica No. 2 Tiempo óptimo de extracción de taninos



5.4 ANÁLISIS FITOQUÍMICO PRELIMINAR DE IDENTIFICACIÓN DE LA PRESENCIA DE TANINOS EN LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LA CORTEZA DE *Byrsonima crassifolia* (NANCE) Y *Pithecollobium dulce* (Mongollano) Y HOJAS DE *Murraya paniculata* (MIRTO).

Tabla No. 5 Resultados del análisis fitoquímico preliminar del extracto de corteza de Nance, corteza de Mongollano y hojas de Mirto

Cantidad de Extracto	Prueba Fitoquímica de Identificación de Taninos <sup>23</sup>	Resultado Esperado <sup>23</sup>	Resultado Obtenido		
			Nance	Mongollano	Mirto
2 mL del Extracto	Solución de Tricloruro de Hierro	Coloración azul oscura o negra	Coloración azul oscura	Coloración negra	Coloración azul
2 mL del Extracto	Solución de Subacetato de plomo	Precipitado blanco abundante	Precipitado blanco abundante	Precipitado blanco abundante	Precipitado blanco
2 mL del Extracto	Solución de Dicromato de potasio	Precipitado coloreado	Precipitado café-naranja	Precipitado café-naranja	Coloración naranja - café
2 mL del Extracto	Solución de gelatina al 25%	Precipitado blanco	Precipitado blanco	Precipitado blanco	Precipitado blanco

#### 5.6 MÉTODO DE ESPECTROSCOPIA VISIBLE PARA LA CUANTIFICACIÓN DE TANINOS COMO DERIVADOS DEL ÁCIDO TÁNICO EN LOS EXTRACTOS ACUOSOS.

Durante el desarrollo del método analítico descrito anteriormente utilizar cuatro muestras de los extractos de las diferentes especies vegetales en estudio: las cortezas de Byrsonima crassifolia (Nance), y Pithecollobium dulce (Mongollano) y las hojas de Murraya paniculata (Mirto), y obtener los valores. (Cálculos ver Anexo 9)

Tabla No. 6 Resultados de las absorbancias de la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico del extracto de corteza de Nance.

Muestras	Absorbancias		Y(Diferencia de las absorbancias)	X [Concentración (mg)] $X = [(y - 0.0108) / 0.0415] * 375000$	X [Concentración (g)]	% taninos $= [(1 * X(g)) / 50 g] * 100$
	Etapa I	Etapa II				
1	0.557	0.004	0.553	4899397.590	4.89	9.78
2	0.560	0.007	0.553	4899397.590	4.89	9.78
3	0.543	0.005	0.538	4763855.422	4.76	9.52
4	0.540	0.006	0.534	4727710.843	4.73	9.46

Tabla No. 6.1 Porcentajes de humedad presente en un gramo de muestra de corteza seca de Nance.

% Humedad	Tiempo (minutos)	Temperatura ° C
11.58	7.58	90.0
11.57	7.51	90.0
11.49	7.41	90.0

Tabla No. 6.2 Concentración de taninos como base seca en la corteza de Nance

Concentración promedio (base húmeda) (%)	9.64
Humedad promedio %	11.55
Concentración promedio (base seca) (%)	21.19

Los resultados de la diferencia de las absorbancias de las 2 etapas del análisis del extracto de la corteza de Byrsonima crassifolia (Nance) nos permite por interpolación encontrar la cantidad de taninos como ácido tánico; de los datos de concentración mostrados en la Tabla No.6 se deduce la concentración promedio 9.64% y los 3 porcentajes de Humedad presentados en la Tabla No.6.1, se obtiene el porcentaje de Humedad promedio que es igual a 11.55%; con estos se hace el cálculo de la cantidad de taninos en la corteza como base seca (21.19%).

Tabla No. 7 Resultados de las absorbancias de la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico del extracto de corteza joven de Mongollano.

Muestras	Absorbancias		Y(Diferencia de las absorbancias)	X [Concentración (mg)] $X = [(y - 0.0108) / 0.0415] * 343750$	X [Concentración (g)]	% taninos = $[(1 * X(g)) / 50 g] * 100$
	Etapa I	Etapa II				
1	0.276	0.110	0.166	1285542.169	1.28	2.56
2	0.275	0.100	0.175	1360090.361	1.36	2.72
3	0.275	0.100	0.175	1360090.361	1.36	2.72
4	0.272	0.080	0.192	1500903.614	1.50	3.00



Tabla No. 7.1 Porcentajes de humedad presente en un gramo de muestra de corteza joven seca de Mongollano.

% Humedad	Tiempo (minutos)	Temperatura ° C
6.62	8.27	90.0
6.58	9.15	90.0
6.71	7.11	90.0

Tabla No. 7.2 Concentración de taninos como base seca en la corteza joven de Mongollano

Concentración promedio (base húmeda) (%)	2.75
Humedad promedio %	6.64
Concentración promedio (base seca) (%)	9.39

Los resultados de la diferencia de las absorbancias de las 2 etapas del análisis del extracto de la corteza de Pithecollobium dulce (Mongollano) nos permite por interpolación encontrar la cantidad de taninos como ácido tánico; de los datos de concentración mostrados en la Tabla No.7 se deduce la concentración promedio 2.75% y los 3 porcentajes de Humedad presentados en la Tabla No.7.1, se obtiene el porcentaje de Humedad promedio que es igual a 6.64%; con estos se hace el calculo de la cantidad de taninos en la corteza en base seca (9.39%)

Tabla No. 8 Resultados de las absorbancias de la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico del extracto de hojas de Mirto.

Muestra	Absorbancias		Y(Diferencia de las absorbancias)	X [Concentración (ppm)] $X = [(y - 0.0108) / 0.0415] * 250000$	X [Concentración (g)]	% taninos = $[(1 * X(g)) / 50 g] * 100$
	Etapa I	Etapa II				
1	0.246	0.131	0.115	627710.843	0.63	1.26
2	0.251	0.133	0.118	645783.133	0.64	1.28
3	0.244	0.131	0.113	615662.651	0.61	1.22
4	0.255	0.135	0.120	657831.325	0.66	1.32

Tabla No. 8.1 Porcentajes de humedad presente en un gramo de muestra de hojas secas de Mirto.

% Humedad	Tiempo (minutos)	Temperatura ° C
11.33	9.40	90.0
11.21	8.11	90.0
11.18	8.25	90.0

Tabla No. 8.2 Concentración de taninos como base seca en las hojas de Mirto.

Concentración promedio (base húmeda) (%)	1.27
Humedad promedio %	11.24
Concentración promedio (base seca) (%)	12.51

Los resultados de la diferencia de las absorbancias de las 2 etapas del análisis del extracto de las hojas de Murraya paniculata (Mirto), nos permite por interpolación encontrar la cantidad de taninos como ácido tánico; de los datos de concentración mostrados en la Tabla No.8 se deduce la concentración promedio 1.27% y de los 3 porcentajes de Humedad presentados en la Tabla No.8.1, se obtiene el porcentaje de Humedad promedio que es igual a 11.24%; con estos se hace el cálculo de la cantidad de taninos como base seca (12.51%).

#### 5.7 DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ESTADÍSTICOS: EXACTITUD, PRECISIÓN, LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN Y REPRODUCIBILIDAD.

##### 5.7.1 Exactitud (ver anexo 9)

Tabla 9.1 Absorbancia vrs Concentración.

CONCENTRACIÓN ( $\mu\text{g/mL}$ )	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA CORREGIDA
4	0.177	0.1761
8	0.349	0.3449
10	0.433	0.4293
12	0.528	0.5137
16	0.668	0.6825
$a=0.0073$		
$b=0.0422$		
$r=0.9983$		

Tabla 9.2 Absorbancia vrs Concentración de muestra para 4 ppm.

NÚMERO DE MUESTRAS	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN DE MUESTRA (µg/mL)
1	0.160	3.618
2	0.180	4.092
3	0.196	4.472
4	0.177	4.021
5	0.197	4.495
6	0.199	4.543

Tabla 9.3 Procesamiento de datos de Concentración de muestra para 4 ppm.

NUMERO DE MUESTRAS	CANTIDAD ENCONTRADA	CANTIDAD RECUPERADA	PORCENTAJE DE RECUPERACION (%)
1	22615.5213	22611.5213	90.4461
2	25577.6066	25573.6066	102.2944
3	27947.2749	27943.2749	111.7731
4	25133.2938	25129.2938	100.5172
5	28095.3791	28091.3791	112.3655
6	28391.5877	28387.5877	113.5504

x =	105.1578
s =	9.0809
CV =	8.6355
% error =	5.1578

Tabla 9.4 Resultados del parámetro de exactitud.

FACTOR DE DILUCIÓN		6250
CANTIDAD ORIGINAL EN LA MUESTRA		25 mg
CANTIDAD ADICIONADA		4 µg/mL
GRADO DE EXACTITUD(%)		94.8422
t TABULADO		2.0150
t CALCULADO		1.3913
LIMITES DE CONFIANZA	SUPERIOR	114.6892
	INFERIOR	95.6264

La tabla de datos 9.1; permite realizar interpolaciones para 6 muestras de concentraciones de 4 ppm del estándar de ácido tánico. Los porcentajes de recuperación se obtiene mediante la utilización de las concentraciones interpoladas y se le aplica la prueba de t de student, resultando un valor de t calculada menor que el t de tablas al 95% (tabla 9.4) lo que muestra que no existe diferencia significativa entre las repeticiones, permitiendo establecer limites de confianza que determina el rango de exactitud del método. El método analítico posee un grado de exactitud del 94.84%.

### 5.7.2 Limite de Cuantificación

Tabla 10.1 Procesamiento de datos para la concentración de 4 ppm.

No. Muestras	Absorbancia	Desviación Estándar (S)	Varianza ( $\sigma$ )	LQ (ppm)
1	0.160	0.01475	0.00022	0.14751
2	0.180			
3	0.196			
4	0.177			

Para 4 muestras de una concentración de 4 ppm, el valor de limite de cuantificación que se reporta en la tabla 10.1 es 0.14751 ppm.

## 5.7.3 Reproducibilidad y Precisión (ver anexos 9 y 10)

Tabla 11.1 Reproducibilidad: concentración vrs absorbancia.

Concentración ppm (X)	Día Analista	Variable de Respuesta (Y)		
		1	2	3
4	1	0.160	0.196	0.180
	2	0.205	0.180	0.177
8	1	0.309	0.366	0.352
	2	0.421	0.360	0.349
10	1	0.409	0.452	0.437
	2	0.515	0.453	0.433
12	1	0.495	0.538	0.531
	2	0.545	0.531	0.528
16	1	0.614	0.662	0.671
	2	0.703	0.971	0.668

Tabla 11.2 Cálculo de reproducibilidad para la concentración 4 ppm.  
(Ver anexo 9)

Día \ Analista	Analista		$\bar{X}$	$\sum x$	$\sum x^2$	S	CV %
	1	2					
1	0.160	0.205	0.183	0.365	0.068	0.0318	17.4355
2	0.196	0.180	0.188	0.376	0.071	0.0113	6.0179
3	0.180	0.177	0.179	0.357	0.064	0.0021	1.1884
$\bar{X}$	0.179	0.187	0.183				
$\sum x$	0.536	0.562		1.098			
$\sum x^2$	0.096	0.106			0.202		
S	0.0180	0.0154					
CV %	10.095	8.206					

Tabla 11.3 Procesamiento de datos para la concentración 4 ppm

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
					1%	5%		
DÍAS	2	0.000091	0.0000455	0.088150	99.00	19.00	NEDES <sup>2</sup>	12.4149
ANALISTAS	1	0.000113	0.0001127	0.218276	98.50	18.51		
ERROR	2	0.001032	0.0005162					
TOTAL	5	0.001236						

<sup>2</sup> NEDES no existen diferencias significativas



Tabla 11.4 Interpretación del análisis de la ANOVA

		CONCENTRACIÓN (ppm)	4	8	10	12	16
		ERROR EXPERIMENTAL (%)	12.41	13.23	12.59	6.21	10.13
FACTOR DE VARIACIÓN	DÍAS	F CALCULADA	0.09	0.05	0.19	0.27	0.05
		RESULTADO F AL 1%	99.00	99.00	99.00	99.00	99.00
		RESULTADO F AL 5%	19.00	19.00	19.00	19.00	19.00
	ANALISTAS	F CALCULADA	0.22	0.78	0.92	0.51	1.20
		RESULTADO F AL 1%	98.50	98.50	98.50	98.50	98.50
		RESULTADO F AL 5%	18.51	18.51	18.51	18.51	18.51
	DECISIÓN		NEDES <sup>2</sup>	NEDES <sup>2</sup>	NEDES <sup>2</sup>	NEDES <sup>2</sup>	NEDES <sup>2</sup>

La interpretación de ANOVAS y decisión (tabla No. 11.4) muestra que no existe diferencia estadística significativa entre los resultados obtenidos por los analistas en diferentes días por lo cual el método cumple con ser reproducible en estas condiciones.

La precisión evaluada como reproducibilidad mostró resultados satisfactorios, pues se aplicó la prueba t de student, la cual reveló la ausencia de diferencias estadísticas significativas entre las medias obtenidas por los analistas.

<sup>2</sup> NEDES no existe diferencia significativa

5.8 METODO DE PRUEBA PARA LA DIFERENCIA DE MEDIAS DE POBLACIONES INDEPENDIENTES CON VARIANZAS DISTINTAS. (Ver Anexo 16)

Tabla 12.1 Cantidad de taninos en gramos presentes en las muestras de las especies vegetales en estudio.

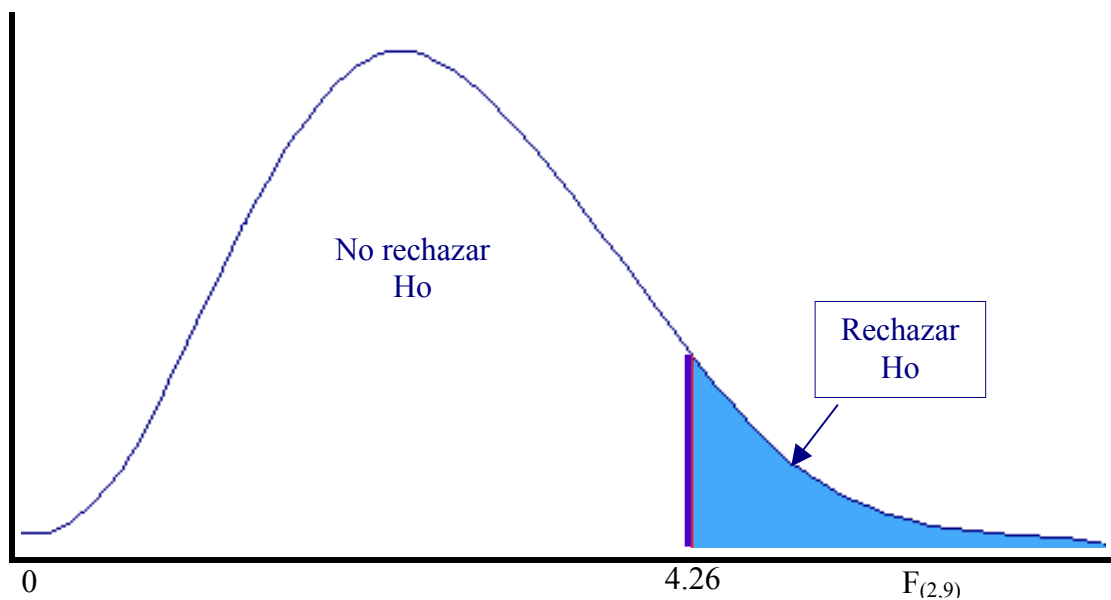
	NANCE (g)	MONGOLLANO (g)	MIRTO(g)
	4.89	1.28	0.63
	4.89	1.36	0.64
	4.76	1.36	0.61
	4.73	1.50	0.66
$\mu$ (media)	4.82	1.38	0.64
$X^2_{ij}$	92.85	7.59	1.61
$T_j$	19.27	5.50	2.54
$T^2_j$	371.33	30.25	6.45
GT	27.31		

Tabla 12.2 Datos para el análisis de varianza para las muestras de las especies vegetales en estudio.

SSB	39.86
SSW	0.05
SST	39.90

c-1	2
n-c	9
MSB	19.93
MSW	0.01
F calculada	3746.22

Grafica No.3 Regiones de rechazo y no rechazo para el análisis de varianza al nivel de significación 0.05 con 2 y 9 grados de libertad con un F tabulado igual a 4.26.



$$H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

La regla de decisión para rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) se basa en que la F calculada es mayor que la F tabulada.

F calculada = 3746.22 es mayor que F tabulada = 4.26.

## **VI. CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Los resultados de los ensayos seleccionados de la monografía USP 24 permitieron demostrar que el estándar de referencia de ácido tánico es calidad USP, ya que este cumplió con las especificaciones farmacopéicas dadas.
2. Se determinó que el tiempo óptimo de extracción acuosa, es decir el tiempo al cual se extrae el porcentaje mayor de taninos hidrosolubles según la Grafica No.2 es de 60 minutos (1 hora), observándose un descenso en la concentración luego de este tiempo.
3. Se comprobó que el porcentaje de taninos encontrados en la corteza de Byrsonima crassifolia (Nance), corteza adulta y joven de Pithecollobium dulce (Mongollano), por el Método Analítico desarrollado es alto y está dentro del rango reportado en la bibliografía. Mientras que el porcentaje de taninos encontrados en las hojas de Murraya paniculata (Mirto), se encuentra cercano al rango reportado en la bibliografía.
4. Se determinó que la cantidad de taninos como derivados del ácido tánico presente en la corteza adulta de Pithecollobium dulce (Mongollano) es mayor que la cantidad presente en la corteza joven.
5. Al comparar las concentraciones de taninos obtenidos a partir de las muestras de las especies en estudio se llegó a la decisión estadística de rechazar la hipótesis nula y puede concluirse que existe diferencia significativa entre las concentraciones de taninos presentes en las muestras de las tres especies vegetales en las cortezas de Pithecollobium dulce (Mongollano) y Byrsonima crassifolia (Nance) y las hojas de Murraya paniculata (Mirto).

6. Las tres especies vegetales investigadas son consideradas buenas fuentes de taninos, las cuales pueden ser usadas en la curtiembre de pieles, como colorantes, como antídotos en intoxicaciones por alcaloides y metales pesados, como cicatrizantes, antidiarreicos, antisépticos, etc.

## **VII. RECOMENDACIONES**



## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios de estimación de la producción de taninos así como de costos de operación de descortezamiento del Nance y Mongollano, pues son las especies vegetales que poseen mayor porcentaje de taninos; de ser especies que no necesitan condiciones especiales de cultivo y propagación, además de su importancia ecológica para los suelos y la fauna.  
  
Con estos estudios se logrará determinar el costo de la obtención para la comercialización de taninos lo que permitirá establecer la factibilidad de la producción de estos para el consumo interno de las industrias nacionales y la exportación.
2. Se recomienda la utilización de la metodología analítica desarrollada en la presente investigación para la cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico, ya que este método demostró ser reproducible, exacto y posee un alto porcentaje de precisión.
3. Se recomienda usar como fuente de taninos las especies vegetales investigadas, pues es muy factible el desarrollo y propagación en el clima y suelos del país.

4. Se recomienda incentivar el cultivo de las especies vegetales estudiadas, ya que esto traería fuentes de empleo y desarrollo a la agricultura a través del impulso de cultivos no tradicionales.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Alonso J. “Farmacognosia, Generalidades de los taninos”, Asociación Argentina de Fitomedicina, Febrero, 2002.  
[www.plantasmedicinales.org/farmacognosia/feb2002/taninos.htm](http://www.plantasmedicinales.org/farmacognosia/feb2002/taninos.htm)
2. Berenson, M.; Levine, D. “Estadística Básica en Administración”. 4ª Edición, Prentice-Hall Hispanoamérica S.A., México, 1992. Pág. 421-423.
3. CATIE, “Agrotecnia de las especies de follaje” , Capitulo XVI, Octubre 2002.  
[www.catie.ac.cr/investigación/jardin1.htm](http://www.catie.ac.cr/investigación/jardin1.htm)
4. Delgado, G. “Validación de Métodos Analíticos”, Universidad Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Dirección de Investigación de Postgrado, León, Nicaragua, Septiembre 1996.
5. Etyler, V.;\_Brady, L.; Roberts, J. E. Pharmacognosy, 7<sup>Th</sup> Edition, Lea y Febiger publishing house, 1976. Pag.104-110.
6. El Informador, Diario Independiente, “Agrotecnia” Artículo 16, Guadalajara, Jalisco, México. 17 de Diciembre de 1996. Pág.4 – 6.

7. Granja, E., “Taninos y sus aplicaciones”, tesis, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua, Facultad de Ciencias Químicas, 1961.
8. Lastra Valdés H., Rodríguez Leyes E. “Método analítico para la cuantificación de taninos en el extracto acuoso de romerillo”, Revista Cubana de Plantas Medicinales, 2000. [http://bsv.sld.cu/revistas/pla/vol5\\_1\\_00/pla05100.htm](http://bsv.sld.cu/revistas/pla/vol5_1_00/pla05100.htm)
9. Manual de Laboratorio de Farmacognosia, Universidad de El Salvador, Facultad de Química y Farmacia, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Ciclo I – 2000.
10. Miranda M., Gutiérrez Y. “Validación de 2 métodos espectrofotométricos para la cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) en Psidium guajaba”, Revista Cubana de Farmacia, 2002.  
[http://bsv.sld.cu/revistas/far/vol34\\_1\\_00/far07100.htm](http://bsv.sld.cu/revistas/far/vol34_1_00/far07100.htm)
11. Nova Genera et Species Plantarum. Byrsonima crassifolia. Artículo 138, Septiembre, 2002.  
[http://www.canabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/35-malpilm.pdf](http://www.canabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/35-malpilm.pdf)

12. Nova Genera et Species Plantarum, Pithecollobium dulce Artículo 146,  
Septiembre, 2002.  
[http://www.canabio.gob.mx/conocimiento/info\\_especies/arboles/doctos/45-  
legum.pdf](http://www.canabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/45-legum.pdf)
13. Quehacer Científico. Revista de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.  
Universidad de El Salvador. Año III, Número 4, San Salvador, Octubre de 2002.
14. Rojas Soriano, R. “Guía para realizar investigaciones sociales”, 18ª. Edición,  
Plaza y Valdés, S.A. de C. V., México 1996, Pág. 32, 31; 70, 71
15. Rivas Cerro, R y otros. “Recopilación, experimentación y validación de prácticas  
de laboratorio utilizando espectrofotómetro ultravioleta-visible y fotómetro de  
llama”. Trabajo de graduación para optar al título de Licenciatura en Química y  
Farmacia, San Salvador, Febrero de 1994.
16. Sánchez Espinal, N. C., “Estudio etnobotánico y farmacognóstico de quince  
plantas medicinales de El Salvador (zona oriental)”. Trabajo de graduación para  
optar al título de Licenciatura en Química y Farmacia, San Salvador, Febrero de  
1980.

17. Sentís L., Pardell H., Cobo E., Canela J. “Manual de Bioestadística”, 2ª Edición, MANSSON S.A., Barcelona, España, 2001. Pág. 112 y 113.
18. SERMANAP Aqua Market, “Diccionario del Agua”, Boletín semanal de Infoagua: Taninos. Octubre 2002.  
[www.Indunar.com](http://www.Indunar.com)
19. Tamayo y Tamayo, M. “El proceso de la investigación científica, fundamentos de investigación con manual de evaluación de proyectos” 2ª. Edición. Editorial Limusa, México 1988, Pág. 21 - 38
20. “The INDEX MERCK of Chemical and Drugs” Edition, Merck & Co. Inc. Rahway, USA, 1960. Pag. 1010-1011.
21. “The United States Pharmacopeia 24, The National Formulary 19”, USP Convention INC. Washington DC, January 2000. Pag. 1588 y 2222.
22. Vides, J. R., “Estudio de los taninos de las tres especies salvadoreñas: Byrsonima crassifolia (nance), Pithecollobium dulce (mongollano), y Trema micrantha (capulín montés). Aplicado a la industria del curtido de pieles”. Tesis, San Salvador, Diciembre, 1958.

23. Wallis, T.E. “Manual de Farmacognosia”, 4<sup>a</sup> Edición, Compañía Editorial Continental, S. A., México Abril 1996.

24. West, D. M. “Química Analítica “ 6a Edición, Editorial Mc Grawn Hill/Interamericana de México S.A. de CV, México 1995

***ANEXOS***



## ANEXO 1

### MATERIAL

CANTIDAD	MATERIAL
2	Agitadores de vidrio
5	Balones de 100 mL
10	Balones de 25 mL
3	Beaker de 100mL
5	Beaker de 250 mL
1	Beaker de 600 mL
1	Beaker de 1000 mL
2	Bureta de 25 mL
1	Cápsula de porcelana
1	Juego de celdas de cuarzo para espectrofotómetro
6	Magnetos
2	Perilla para pipeta
2	Pipeta volumétrica de 20 mL
2	Pipetas volumétrica de 1 mL
2	Pipetas volumétrica de 2 mL
2	Pipetas volumétricas de 10 mL
2	Pipetas volumétricas de 4 mL
2	Pipetas volumétricas de 5 mL
1	Pizeta
1	Probeta de 100 mL
1	Probeta de 15 mL
1	Probeta de 50 mL
2	Soporte con pinza para bureta

## ANEXO 2 EQUIPO

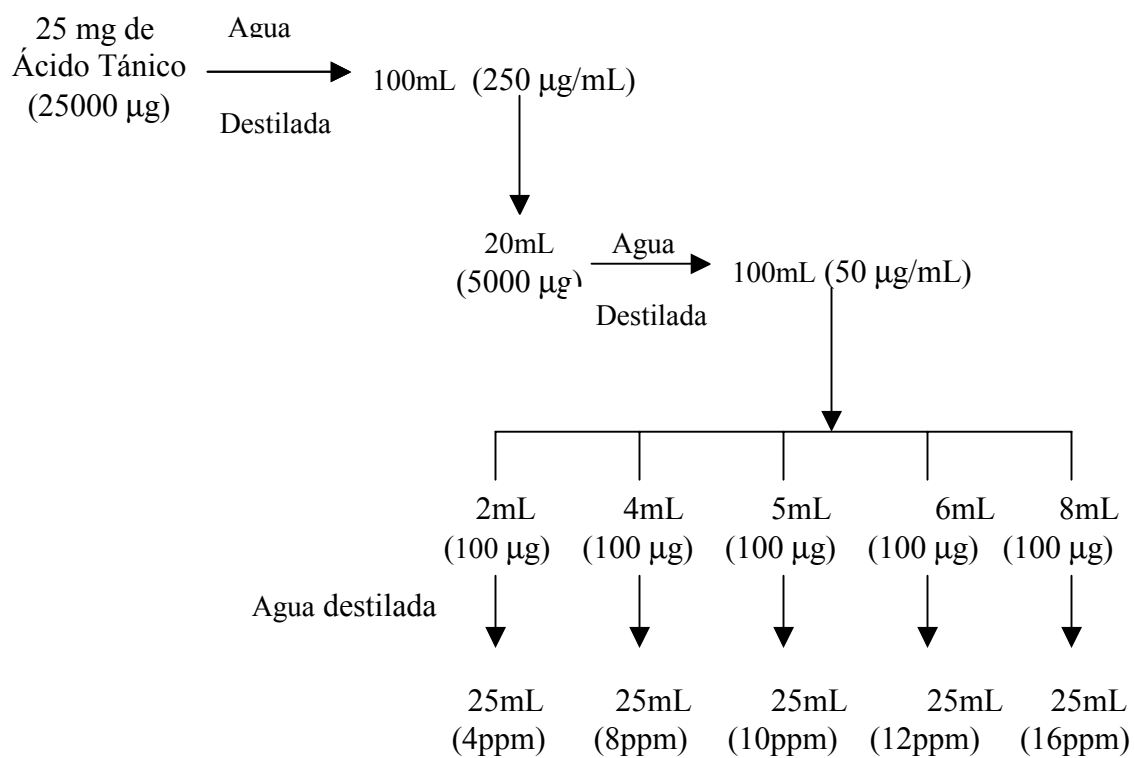
CANTIDAD	EQUIPO
3	Aparatos de Reflujo: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Balón de fondo redondo (1000 mL)</li> <li>• Columnas Vigraux</li> <li>• Soporte</li> <li>• Pinzas de sostén</li> <li>• Pinzas de extensión</li> </ul>
1	Desecador
1	Espectrofotómetro Ultravioleta visible Lambda 12 Perkin Elmer
1	Espectrofotómetro Ultravioleta visible Lambda 2 Perkin Elmer
1	Estufa Perkin Elmer
3	Hot plate
1	Karl Fisher Mettler Toledo DL18
1	Molino de martillos, Thomas- Willy Modelo 4
1	Secador solar

**REACTIVOS**

CANTIDAD	REACTIVOS
10 mL	Ácido Clorhídrico concentrado
1.0 g	Ácido fosfomolibdico hidratado
15 mL	Ácido Fosfórico al 85 %
10 mL	Ácido Sulfúrico al 98%
5 g	Ácido tánico (estándar de referencia)
20 L	Agua destilada
150 g	Caolín
25 g	Carbonato de sodio
1500 g	Cloruro de Sodio
10 g	Dicromato de Potasio
200 g	Gelatina
2 g	Subacetato de Plomo
15 g	Tricloruro de Hierro
20 g	Tungstanato de sodio dihidratado

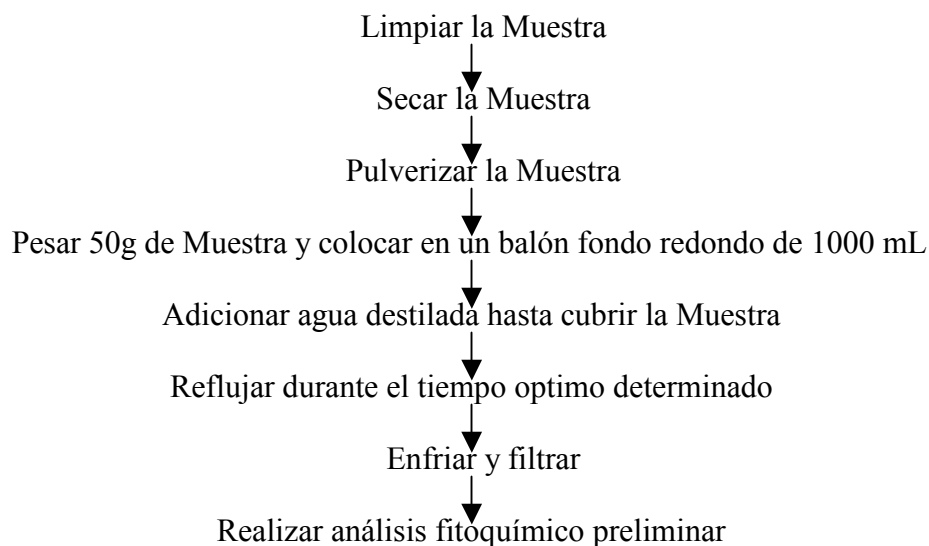
**ANEXO 3<sup>8</sup>**

## 3.1 Marchas

Curva de Calibración

Blanco = Agua Destilada

Lectura de absorbancia a una longitud de onda de 700nm

3.2 Extracción de taninos<sup>8</sup>

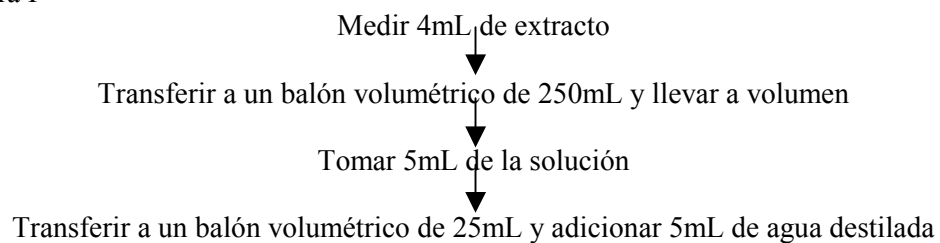
Cantidad de Extracto	Prueba Fitoquímica de Identificación de Taninos <sup>23</sup>	Resultado Esperado <sup>23</sup>	Resultado
2 mL del Extracto	2mL Solución de Tricloruro de Hierro	Coloración azul oscura o negra	
2 mL del Extracto	2 mL Solución de Subacetato de plomo	Precipitado blanco abundante	
2 mL del Extracto	2mL Solución de Dicromato de potasio	Precipitados coloreados	
2 mL del Extracto	2mL Solución de gelatina al 25% <sup>8</sup>	Precipitados blancos	

### 3.3 Cuantificación de taninos<sup>8</sup>

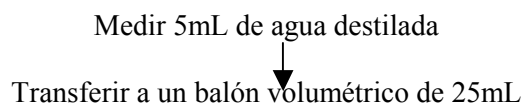
#### Preparación de muestras y blancos

3.3.1 Etapa I: Cuantificar los polifenoles totales en el extracto acuoso.

Muestra I

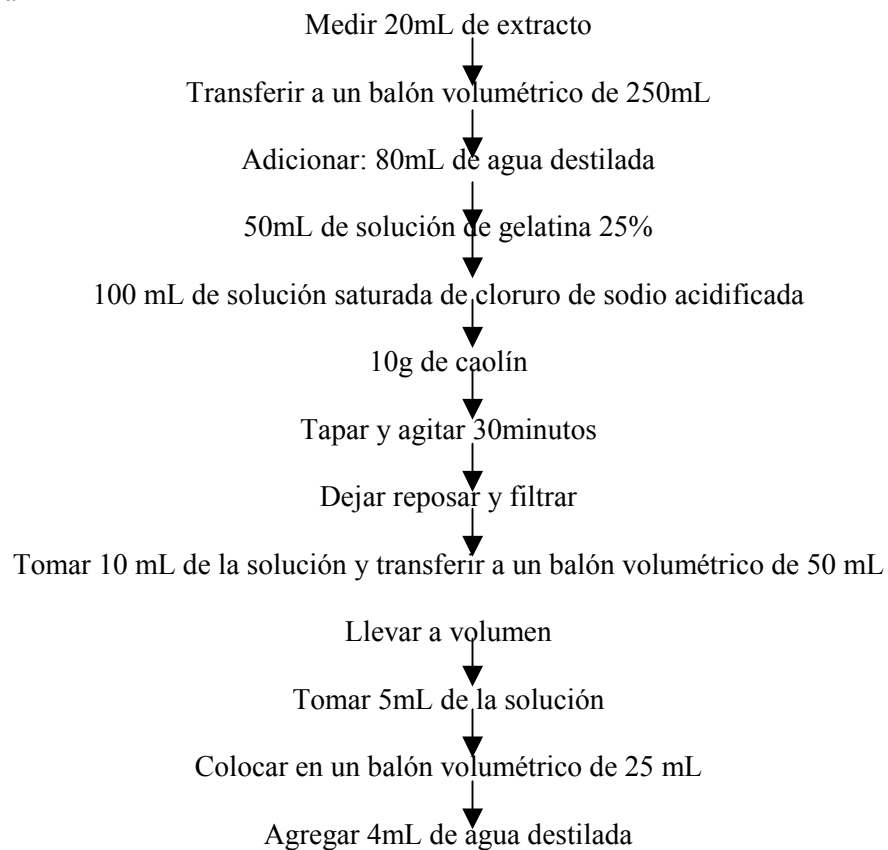


Blanco I

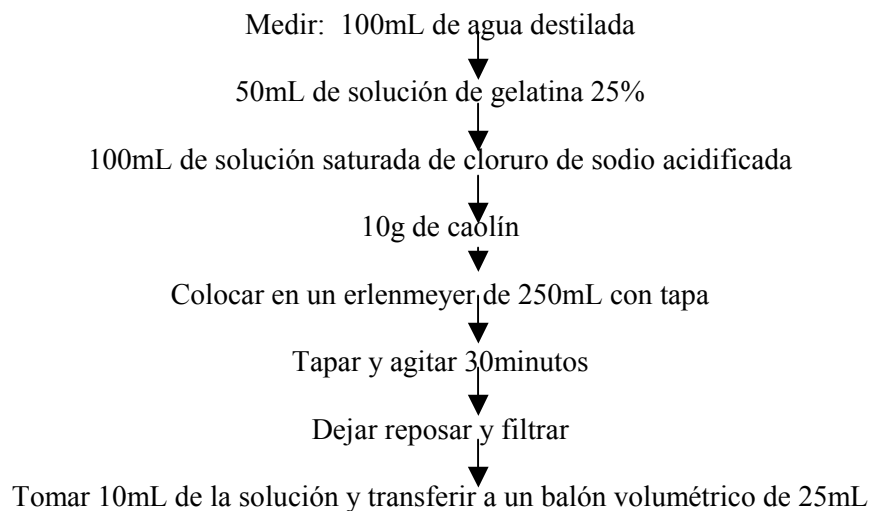


### 3.3.2 Etapa II: Cuantificar los polifenoles residuales en el extracto acuoso.

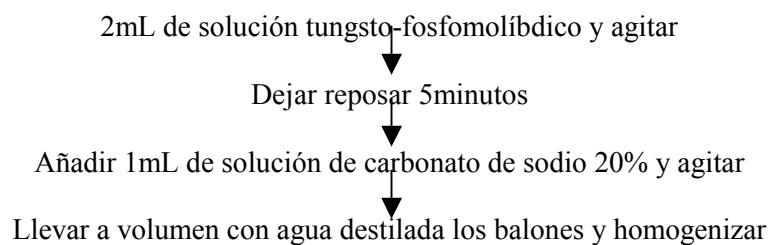
#### Muestra II



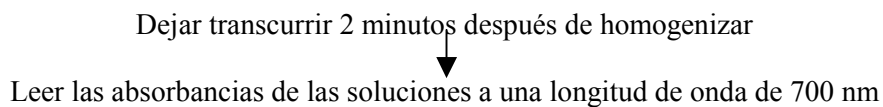
## Blanco II

3.3.3  
Desarrollo de  
color

Adicionar a las muestras, estándares y blancos:



## 3.3.4 Lectura de las absorbancias





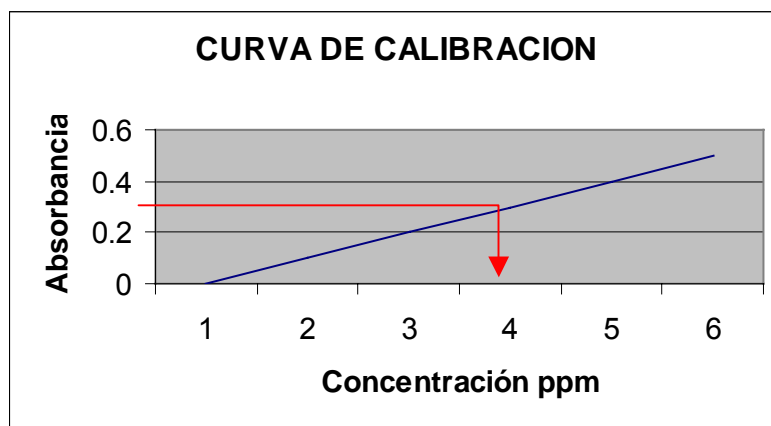
ANEXO 4<sup>8</sup>**PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN TUNGSTO-FOSFOMOLÍBDICO.**

Disolver 10 g de tungstato de sodio dihidratado, 0.2 g de ácido fosfomolibdico hidratado y 5.0 mL de ácido fosfórico al 85 % en 75 mL de agua destilada, refluja la solución por dos horas y completar a volumen con agua destilada a 100 mL.

ANEXO 5<sup>24</sup>**CURVA DE CALIBRACION**

La curva de calibración de absorbancia contra concentración, se elabora a partir de las absorbancias de las soluciones que contienen concentraciones conocidas y diferentes entre ellas, de la sustancia empleada como estándar de referencia.

Esta se emplea para determinar posteriormente la concentración de las soluciones desconocidas, es decir de las muestras, localizando la absorbancia de éstas en el eje Y y leyendo la concentración correspondiente en el eje X.



## ANEXO 6<sup>21</sup>

### ACIDO TANICO

*Ácido tánico, ácido galotánico o tanino* (U.S.P. 1842 a 1950l; N.F. hasta la fecha) Es un tanino que suele obtenerse de la nuez de agalla. Las agallas contienen como constituyente principal de 50 al 70 % de tanino, que da ácido galotánico. Las agallas pulverizadas son extraídas con una mezcla de éter, alcohol y agua; el líquido se separa en capas; la acuosa, que contiene galotanino, y la etérea, que contienen el ácido gálico libre de agalla. Separadas las capas, se evapora la solución de galotanino y se purifica el tanino por distintos métodos

**Descripción:** Polvo amorfo, masas esponjosas o escamas brillantes de color pardo claro o blanco amarillento, olor débil y sabor muy astringente. El ácido tánico es soluble en agua, alcohol y acetona, e insoluble en éter, cloroformo y bencina. La solución acuosa de ácido tánico se colorea de negro azulado con solución de cloruro férrico y precipitada los alcaloides, la albúmina y la gelatina de sus soluciones. Debe estar libre de goma, dextrina y sustancias resinosas.

**Usos y Dosis:** El ácido tánico es astringente y se utiliza para tratar las quemaduras. Es un agente precipitante de alcaloides y como tal, se ha empleado en casos de envenenamiento por los mismos. Como antídoto se administraba en dosis de 1 g.

**ANEXO 7<sup>21</sup>**  
**MONOGRAFÍA DEL ACIDO TÁNICO**  
**TOMADA DE LA USP 24**

## Tannic Acid

Tannin.

Tannic acid; Tannin [1401-55-4].

» Tannic Acid is a tannin usually obtained from nutgalls, the excrescences produced on the young twigs of *Quercus infectoria* Oliver, and allied species of *Quercus* Linné (Fam. Fagaceae), from the seed pods of Tara (*Caesalpinia spinosa*), or from the nutgalls or leaves of sumac (any of a genus *Rhus*).

**Packaging and storage**—Preserve in tight, light-resistant containers.

**Identification**—

**A:** To 2 mL of a solution (1 in 10) add 1 drop of ferric chloride TS: a bluish black color or precipitate results.

**B:** To a solution (1 in 10) add an equal volume of gelatin solution (1 in 100): a precipitate is formed.

**Loss on drying** (731)—Dry it at 105° for 2 hours: it loses not more than 12.0% of its weight.

**Residue on ignition** (281): not more than 1.0%.

**Arsenic, Method II** (211): 3 ppm.

**Heavy metals, Method II** (231): 0.004%.

**Gum or dextrin**—Dissolve 2 g in 10 mL of hot water: the solution is not more than slightly turbid. Cool, filter, and divide the filtrate into two equal portions. To one portion add 10 mL of alcohol: no turbidity is produced.

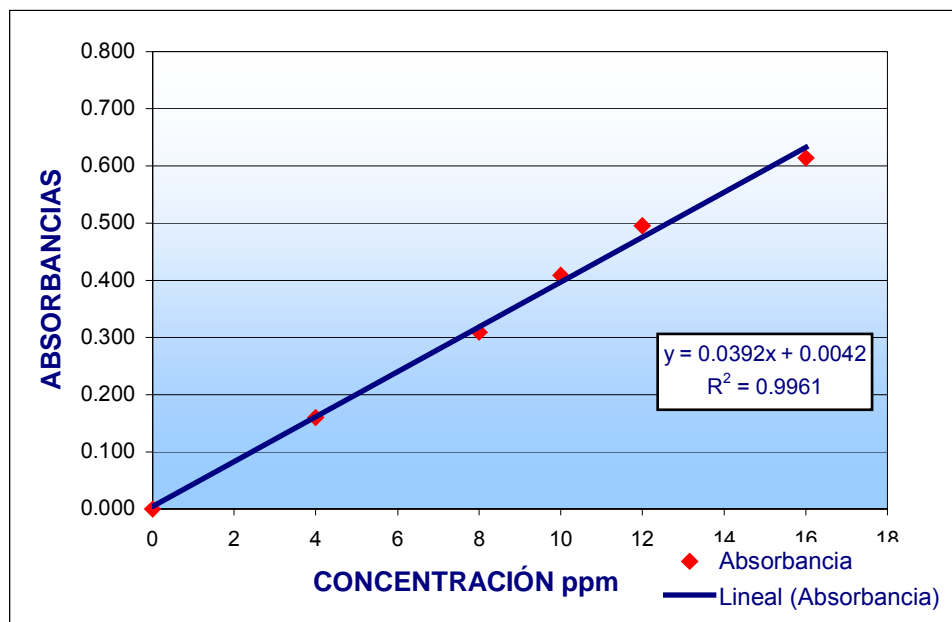
**Resinous substances**—To a portion of the filtrate obtained in the test for *Gum or dextrin* add 10 mL of water: no turbidity is produced.

**Organic volatile impurities, Method I** (467): meets the requirements.

## ANEXO 8

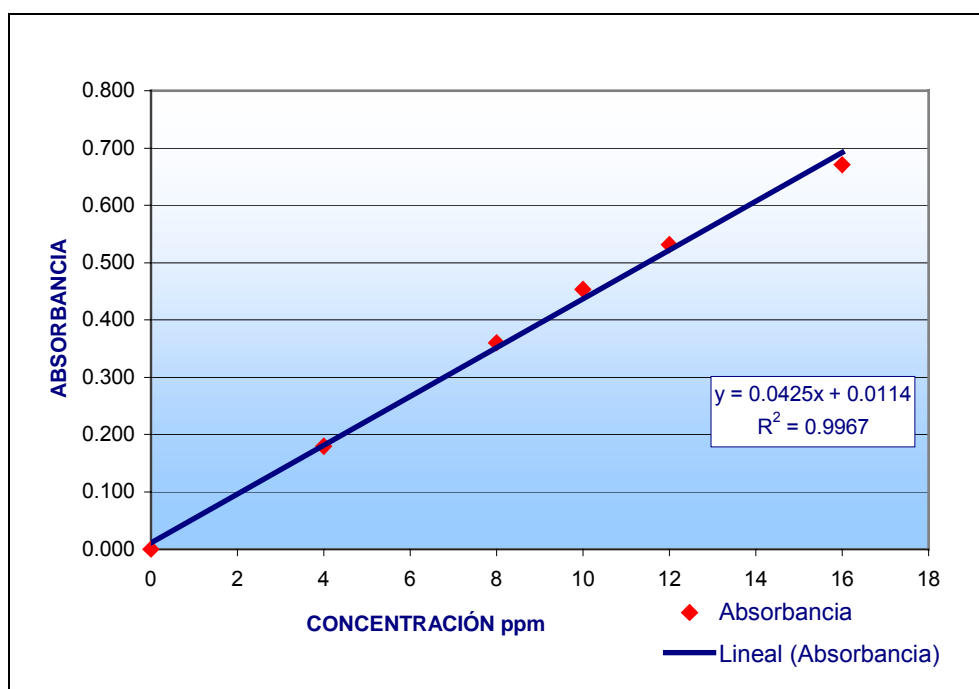
GRAFICA No. 1.2 CURVA DE CALIBRACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA ACIDO TANICO 1

C ppm	Absorbancia
0	0.000
4	0.160
8	0.309
10	0.409
12	0.495
16	0.614



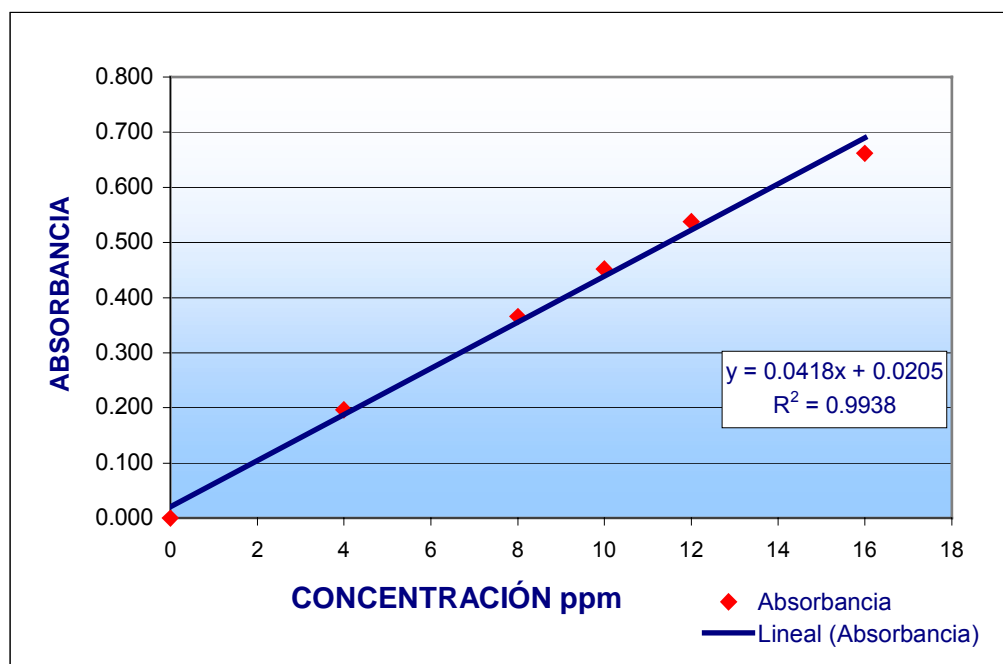
GRAFICA No. 1.3 CURVA DE CALIBRACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA ACIDO TANICO 2

C ppm	Absorbancia
0	0.000
4	0.180
8	0.360
10	0.453
12	0.531
16	0.671



GRAFICA No. 1.4 CURVA DE CALIBRACION DEL  
ESTANDAR DE  
REFERENCIA ACIDO TANICO 3

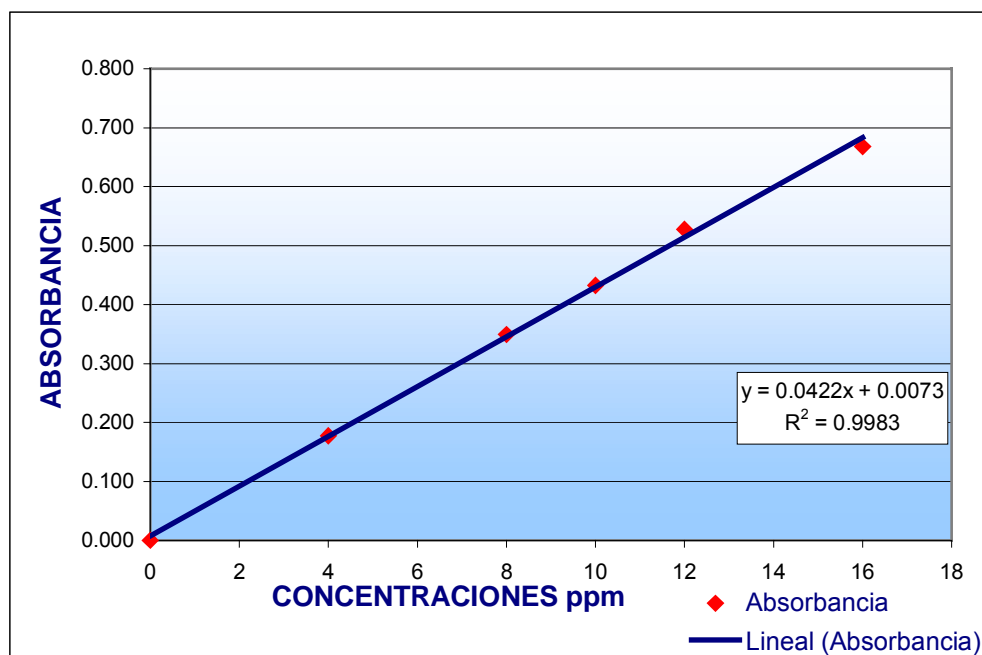
C ppm	Absorbancia
0	0.000
4	0.196
8	0.366
10	0.452
12	0.538
16	0.662





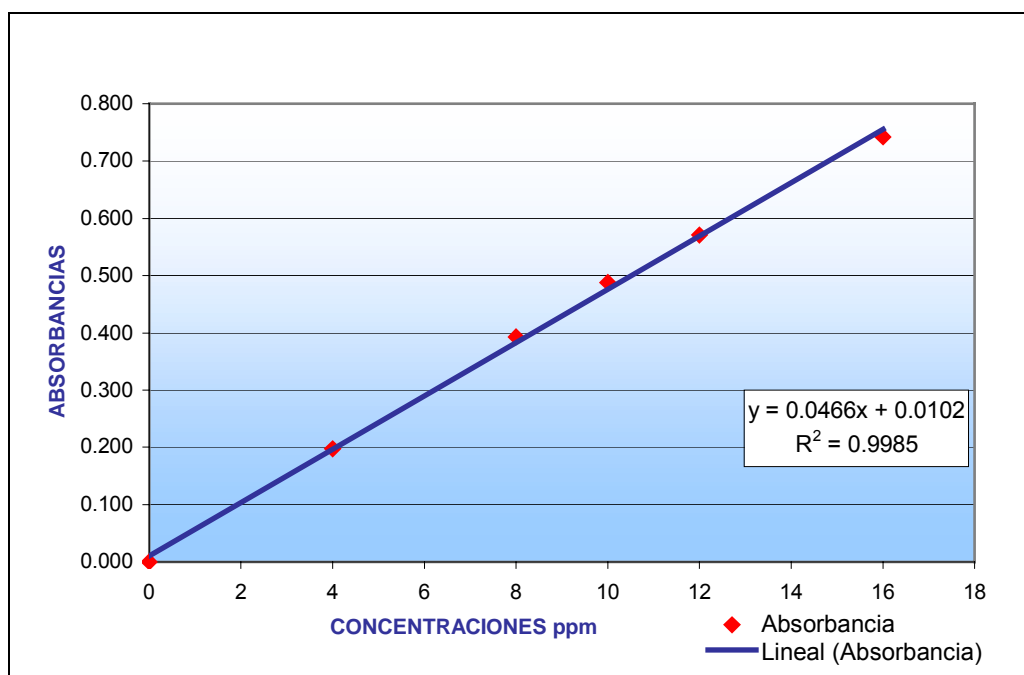
GRAFICA No. 1.5 CURVA DE CALIBRACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA ACIDO TANICO 4

C ppm	Absorbancia
0	0.000
4	0.177
8	0.349
10	0.433
12	0.528
16	0.668



GRAFICA No. 1.6 CURVA DE CALIBRACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA ACIDO TANICO 5\*

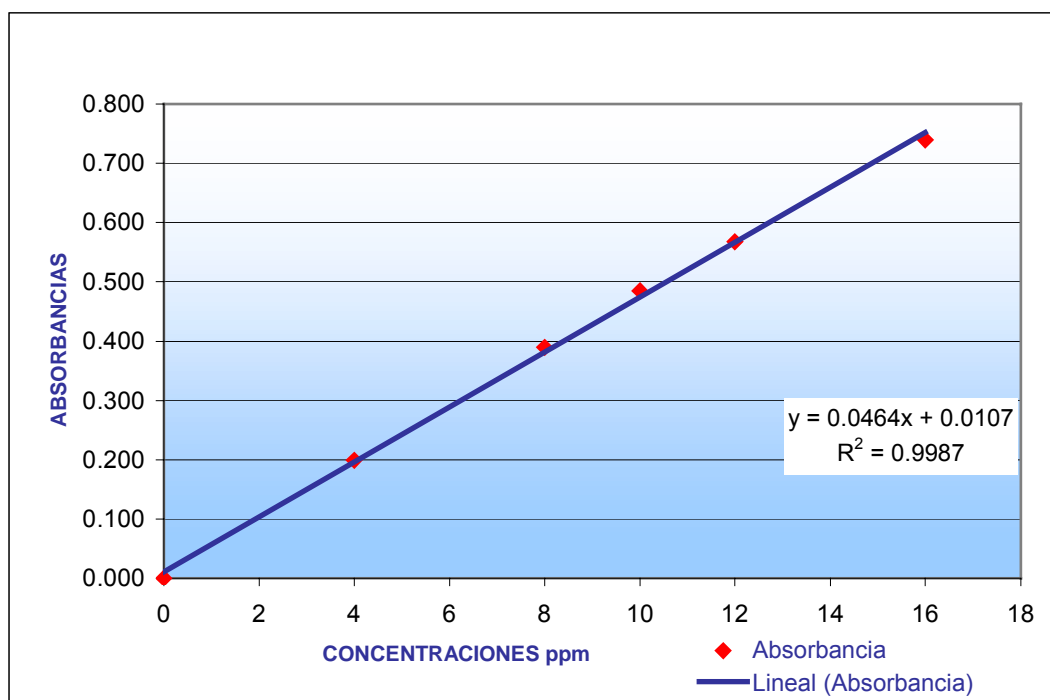
C ppm	Absorbancia
0	0.000
4	0.197
8	0.393
10	0.488
12	0.571
16	0.742



\* Las curvas 1.6 y 1.7 se realizaron en otro equipo, en el espectrofotómetro Lambda 2 UV/VIS para determinar el parámetro de exactitud.

GRAFICA No. 1.7 CURVA DE CALIBRACION DEL ESTANDAR DE REFERENCIA ACIDO TANICO 6 \*

C ppm	Absorbancia
0	0.000
4	0.199
8	0.390
10	0.485
12	0.568
16	0.740



\* Las curvas 1.6 y 1.7 se realizaron en otro equipo, en el espectrofotómetro Lambda 2 UV/VIS para determinar el parámetro de exactitud.

## ANEXO 9

### EJEMPLO DE CÁLCULOS

1. Parámetro de exactitud para la concentración de 4ppm del estándar de referencia ácido tánico:

$$\text{Factor de dilución (FD)} = (100 * 100 * 25) / (20 * 2) = 6250$$

$$\text{Cantidad encontrada} = 3.618 * 6250$$

$$\text{Cantidad recuperada} = 22615.5213 - 4 = 22611.5213$$

$$\text{Porcentaje de recuperación} = 22611.5213 / 25,000 * 100 = 90.4461$$

$$\text{Porcentaje de error} = (25,000 - 22611.5213) / 25,000 * 100 = 5.1578$$

$$\text{Grado de exactitud} = 100 - 5.1578 = 94.8422$$

La t student es utilizada para comprobar si existe o no diferencia estadística significativa entre las repeticiones.

$$t \text{ calculada} = | 105.1578 - 100 | / 9.0809 * \sqrt{6}$$

donde: X = el promedio de los porcentajes de recuperación = 105.1578

S = desviación estándar de los porcentajes de recuperación = 9.0809

$\mu$  = valor del estándar de referencia = 100

N = numero de repeticiones = 6

$$\text{Coeficiente de variación (CV)} = ( 9.0809 / 105.1578 ) * 100 = 8.6355$$

El valor obtenido es comparado con el valor reportado en tablas de distribución t student al 95% para n-1 grado de libertad (ver anexo 14).

Criterio:

Si  $t$  calculado = 1.3913, es menor que el valor de  $t$  tabulado = 2.5710 no existe diferencia estadística significativa.

Determinar los límites de confianza (L.C.) mediante la siguiente expresión:

$$L.C. = 105.1578 \pm [2.5710 * 9.0809 / \sqrt{6}] = 95.6264 - 114.6892$$

2. Parámetro de reproducibilidad para la concentración de 4ppm del estándar de referencia ácido tánico:

TABLA XX PLANTEAMIENTO DE LA ANOVA ORIGINADA

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
DÍAS	I	V	IX	XII	XIV	XVI	XVIII	XIX
ANALISTAS	II	VI	X	XIII	XV	XVII		
ERROR	III	VII	XI					
TOTAL	IV	VIII						

$$I = 3 - 1 = 2$$

$$II = 2 - 1 = 1$$

$$III = (3 - 1)(2 - 1) = 2$$

$$IV = 3(2) - 1 = [(3 - 1) + (2 - 1)] + (3 - 1)(2 - 1) = 5$$

$$V = \frac{(0.365)^2 + (0.376)^2 + (0.357)^2}{2} - 0.2009 = 0.000091$$

$$VI = \frac{(0.179)^2 + (0.187)^2}{3} - 0.2009 = 0.000113$$

$$VII = 0.001236 - 0.000091 - 0.000113 = 0.001032$$

$$VIII = 0.202 - 0.2009 = 0.001236$$

$$IX = 0.000091 / 2 = 0.0000455$$

$$X = 0.000113 / 1 = 0.000112667$$

$$XI = 0.001032 / 2 = 0.000516167$$

$$XII = 0.0000455 / 0.000516167 = 0.088150$$

$$XIII = 0.000112667 / 0.000516167 = 0.218276$$

XIV = Valor de la tabla de distribución F al 1% (anexo 14), entrando con 2 por la parte superior y con 2 por el lado izquierdo = 99.00

XV = Valor de la tabla de distribución F al 1% (anexo 14), entrando con 1 por la parte superior y con 2 por el lado izquierdo = 98.49

XVI = Valor de la tabla de distribución F al 5% (anexo 15), entrando con 2 por la parte superior y con 2 por el lado izquierdo = 19.00

XVII = Valor de la tabla de distribución F al 5% (anexo 15), entrando con 1 por la parte superior y con 2 por el lado izquierdo = 18.51

XVIII = Si 0.088150 es menor que 99.00 y 19.00 o 0.088150 es menor que 98.49 y 18.51, no existe diferencia estadística significativa (NEDES)

$$XIX = \sqrt{\frac{0.000516167}{0.183}} * 100 = 12.4149$$

a = número de tratamientos = 3

b = número de analistas = 2

C = factor de corrección =  $(1.098)^2 / 6 = 0.2009$

## ANEXO 10

### TABLA DE CÁLCULOS PARA LOS PARÁMETROS ESTADÍSTICOS

#### REPRODUCIBILIDAD Y PRECISIÓN

TABLA 12.3 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL METODO ANALITICO A UNA CONCENTRACIÓN DE 8 ppm DE ACIDO TANICO

Analista Día	1	2	X	$\Sigma x$	$\Sigma x^2$	S	CV %
1	0.309	0.421	0.365	0.730	0.273	0.0792	21.698
2	0.366	0.360	0.363	0.726	0.264	0.0042	1.169
3	0.352	0.349	0.351	0.701	0.246	0.0021	0.605
x	0.342	0.377	0.360				
$\Sigma x$	1.027	1.130		2.157			
$\Sigma x^2$	0.353	0.429			0.782		
S	0.0297	0.0388					
CV %	8.677	10.297					

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
					1%	5%		
DÍAS	2	0.000247	0.000123	0.054570	99.00	19.00	NEDES	13.2330
ANALISTAS	1	0.001768	0.0017682	0.781280	98.49	18.51		
ERROR	2	0.004526	0.0022632					
TOTAL	5	0.006541						

TABLA 12.4 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL METODO ANALITICO A UNA CONCENTRACIÓN DE 10 ppm DE ACIDO TANICO

Analista Dia	1	2	X	$\Sigma x$	$\Sigma x^2$	S	CV %
1	0.409	0.515	0.462	0.924	0.433	0.0750	16.224
2	0.452	0.453	0.453	0.905	0.410	0.0000	0.000
3	0.437	0.433	0.435	0.870	0.378	0.0000	0.002
x	0.433	0.467	0.349				
$\Sigma x$	1.298	1.401		2.699			
$\Sigma x^2$	0.563	0.658			1.220		
S	0.0218	0.0428					
CV %	5.044	9.155					

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
					1%	5%		
DÍAS	2	0.000750	0.0003752	0.194471	99.00	19.00	NEDES	12.5852
ANALISTAS	1	0.001768	0.0017682	0.916544	98.49	18.51		
ERROR	2	0.003858	0.0019292					
TOTAL	5	0.006377						



TABLA 12.5 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL METODO ANALITICO A UNA CONCENTRACIÓN DE 12 ppm DE ACIDO TANICO

Analista Día	1	2	X	$\Sigma x$	$\Sigma x^2$	S	CV %
	1	0.495	0.543	0.519	1.038	0.540	0.0339
2	0.538	0.531	0.535	1.069	0.571	0.0049	0.926
3	0.531	0.528	0.530	1.059	0.561	0.0021	0.401
x	0.521	0.534	0.349				
$\Sigma x$	1.564	1.602		3.166			
$\Sigma x^2$	0.816	0.856			1.672		
S	0.0231	0.0079					
CV %	4.426	1.486					

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
					1%	5%		
DÍAS	2	0.000250	0.0001252	0.266218	99.00	19.00	NEDES	6.2130
ANALISTAS	1	0.000241	0.0002407	0.511875	98.49	18.51		
ERROR	2	0.000940	0.0004702					
TOTAL	5	0.001431						

TABLA 12.6 PROCESAMIENTO DE LOS DATOS OBTENIDOS EN EL METODO ANALITICO A UNA CONCENTRACIÓN DE 16 ppm DE ACIDO TANICO

Analista Día	1	2	X	$\Sigma x$	$\Sigma x^2$	S	CV %
1	0.614	0.703	0.659	1.317	0.871	0.0629	9.557
2	0.662	0.671	0.667	1.333	0.888	0.0064	0.955
3	0.671	0.668	0.670	1.339	0.896	0.0021	0.317
x	0.649	0.681	0.349				
$\Sigma x$	1.947	2.042		3.989			
$\Sigma x^2$	1.265	1.391			2.656		
S	0.0306	0.0194					
CV %	4.722	2.850					

FACTOR DE VARIACIÓN	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA DE CUADRADOS	MEDIA DE CUADRADOS	F CALCULADA	F TABULADA		DECISIÓN	ERROR EXPERIMENTAL (%)
					1%	5%		
DÍAS	2	0.000129	0.0000647	0.051706	99.00	19.00	NEDES	10.1332
ANALISTAS	1	0.001504	0.0015042	1.202692	98.49	18.51		
ERROR	2	0.002501	0.0012507					
TOTAL	5	0.004135						

## ANEXO 11

### FOTOGRAFÍAS DEL DESARROLLO DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA

Foto No. 1 Pruebas de Identificación del estándar de referencia Ácido Tánico



Foto No. 2 Determinación del tiempo óptimo de extracción



Foto No. 3 Análisis Fitoquímico preliminar del extracto de corteza de Nance



Foto No. 4 Cuantificación de Taninos en extracto de corteza de Nance



ANEXO 12  
**GLOSARIO**

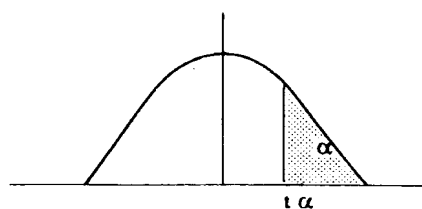
- Coeficiente de variación: expresa la desviación típica como un porcentaje del promedio alrededor del cual se toman las desviaciones.
- Confiabilidad: condición en la cual observaciones repetidas de los mismos fenómenos con un mismo instrumento presentan resultados similares.
- Conglomerados: es una unidad muestral de un grupo de elementos de la población.
- Desviación estándar: es la raíz cuadrada de la media aritmética del cuadrado de las desviaciones de cada valor de variable con respecto a la medición.
- Estíptico: de sabor metálico, astringente, que estrecha los tejidos orgánicos.
- Extracción: farmacéuticamente implica la separación de fracciones medicinalmente activas de tejidos vegetales o animales de componentes inactivos o inertes utilizando solventes selectivos.
- Extractos: son preparaciones concentradas de drogas de origen vegetal o animal obtenidas mediante la remoción de los componentes activos de las drogas respectivas con menstruos apropiados.

- Hemoptisis: hemorragia pulmonar caracterizada por la expectoración de sangre; suele acompañar la tuberculosis pulmonar.
- Hipótesis nula: es aquella por lo cual indicamos que la información a obtener es contraria a la hipótesis de trabajo
- Hipótesis de trabajo: presenta la hipótesis general de la investigación en torno al fenómeno que se va a estudiar y de los instrumentos con que se va a medir las variables.
- Media: promedio aritmético, que es la suma de todos los puntajes divididos por su número.
- Nivel de confianza  $(1 - \alpha)$  probabilidad que la muestra por seleccionarse produzca valores límites que se localicen en lados opuestos del parámetro que se estima. Algunas veces el nivel de confianza se llama coeficiente de confianza.
- Pulverizar: reducir a polvo una cosa; destruir y moler.
- Varianza: es el cuadrado de la desviación típica; mide esencialmente el promedio de las desviaciones al cuadrado a partir de la media.

## ANEXO 13

### TABLA t STUDENT

Distribución t de Student con v grados de libertad



v	t <sub>.45</sub>	t <sub>.40</sub>	t <sub>.30</sub>	t <sub>.25</sub>	t <sub>.20</sub>	t <sub>.10</sub>	t <sub>.05</sub>	t <sub>.025</sub>	t <sub>.01</sub>	t <sub>.005</sub>
1	.158	.325	.727	1.000	1.376	3.08	6.31	12.71	31.82	63.66
2	.142	.289	.617	.816	1.061	1.89	2.92	4.30	6.96	9.92
3	.137	.277	.584	.765	.978	1.64	2.35	3.18	4.54	5.84
4	.134	.271	.569	.741	.941	1.53	2.13	2.78	3.75	4.60
5	.132	.267	.559	.727	.920	1.48	2.02	2.57	3.36	4.03
6	.131	.265	.553	.718	.906	1.44	1.94	2.45	3.14	3.71
7	.130	.263	.549	.711	.896	1.42	1.90	2.36	3.00	3.50
8	.130	.262	.546	.706	.889	1.40	1.86	2.31	2.90	3.36
9	.129	.261	.543	.703	.883	1.38	1.83	2.26	2.82	3.25
10	.129	.260	.542	.700	.879	1.37	1.81	2.23	2.76	3.17
11	.129	.260	.540	.697	.876	1.36	1.80	2.20	2.72	3.11
12	.128	.259	.539	.695	.873	1.36	1.78	2.18	2.68	3.06
13	.128	.259	.538	.694	.870	1.35	1.77	2.16	2.65	3.01
14	.128	.258	.537	.692	.868	1.34	1.76	2.14	2.62	2.98
15	.128	.258	.536	.691	.866	1.34	1.75	2.13	2.60	2.95
16	.128	.258	.535	.690	.865	1.34	1.75	2.12	2.58	2.92
17	.128	.257	.534	.689	.863	1.33	1.74	2.11	2.57	2.90
18	.127	.257	.534	.688	.862	1.33	1.73	2.10	2.55	2.88
19	.127	.257	.533	.688	.861	1.33	1.73	2.09	2.54	2.86
20	.127	.257	.533	.687	.860	1.32	1.72	2.09	2.53	2.84
21	.127	.257	.532	.686	.859	1.32	1.72	2.08	2.52	2.83
22	.127	.256	.532	.686	.858	1.32	1.72	2.07	2.51	2.82
23	.127	.256	.532	.685	.858	1.32	1.71	2.07	2.50	2.81
24	.127	.256	.531	.685	.857	1.32	1.71	2.06	2.49	2.80
25	.127	.256	.531	.684	.856	1.32	1.71	2.06	2.48	2.79
26	.127	.256	.531	.684	.856	1.32	1.71	2.06	2.48	2.78
27	.127	.256	.531	.684	.855	1.31	1.70	2.05	2.47	2.77
28	.127	.256	.530	.683	.855	1.31	1.70	2.05	2.47	2.76
29	.127	.256	.530	.683	.854	1.31	1.70	2.04	2.46	2.76
30	.127	.256	.530	.683	.854	1.31	1.70	2.04	2.46	2.75
40	.126	.255	.529	.681	.851	1.30	1.68	2.02	2.42	2.70
60	.126	.254	.527	.679	.848	1.30	1.67	2.00	2.39	2.66
120	.126	.254	.526	.677	.845	1.29	1.66	1.98	2.36	2.62
∞	.126	.253	.524	.674	.842	1.28	1.645	1.96	2.33	2.58

**ANEXO 14**  
**TABLA DE DISTRIBUCIÓN F AL 99 %**



Tabla V Valores de  $F_{0.05}$   
Grados de libertad del numerador

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
1	4.052	5.000	5.403	5.625	5.764	5.859	5.928	5.982	6.023	6.056	6.106	6.157	6.209	6.235	6.261	6.287	6.313	6.339	6.366
2	98.5	99.0	99.2	99.2	99.3	99.3	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4	99.4	99.5	99.5	99.5	99.5	99.5
3	14.1	14.8	15.0	15.1	15.2	15.2	15.3	15.3	15.3	15.3	15.3	15.3	15.3	15.3	15.4	15.4	15.4	15.4	15.4
4	10.1	10.6	10.7	10.8	10.8	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9	10.9	11.0	11.0	11.0	11.0	11.0
5	7.71	8.04	8.12	8.18	8.21	8.23	8.25	8.26	8.27	8.28	8.28	8.29	8.29	8.29	8.30	8.30	8.30	8.30	8.30
6	6.58	6.85	6.91	6.95	6.97	6.99	7.00	7.01	7.01	7.02	7.02	7.02	7.02	7.02	7.03	7.03	7.03	7.03	7.03
7	5.99	6.21	6.25	6.28	6.30	6.31	6.32	6.32	6.33	6.33	6.33	6.33	6.33	6.33	6.34	6.34	6.34	6.34	6.34
8	5.58	5.75	5.78	5.80	5.81	5.82	5.82	5.83	5.83	5.83	5.83	5.83	5.83	5.83	5.84	5.84	5.84	5.84	5.84
9	5.27	5.40	5.42	5.43	5.44	5.44	5.44	5.44	5.44	5.44	5.44	5.44	5.44	5.44	5.45	5.45	5.45	5.45	5.45
10	5.01	5.10	5.11	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.12	5.13	5.13	5.13	5.13	5.13
11	4.79	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.85	4.86	4.86	4.86	4.86	4.86
12	4.61	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.65	4.66	4.66	4.66	4.66	4.66
13	4.46	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.48	4.49	4.49	4.49	4.49	4.49
14	4.33	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.34	4.35	4.35	4.35	4.35	4.35
15	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.21	4.22	4.22	4.22	4.22	4.22
16	4.11	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.10	4.11	4.11	4.11	4.11	4.11
17	4.02	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00	4.01	4.01	4.01	4.01	4.01
18	3.94	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.91	3.92	3.92	3.92	3.92	3.92
19	3.87	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.83	3.84	3.84	3.84	3.84	3.84
20	3.81	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.76	3.77	3.77	3.77	3.77	3.77
21	3.75	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.69	3.70	3.70	3.70	3.70	3.70
22	3.70	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.63	3.64	3.64	3.64	3.64	3.64
23	3.65	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.57	3.58	3.58	3.58	3.58	3.58
24	3.61	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.52	3.53	3.53	3.53	3.53	3.53
25	3.57	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.47	3.48	3.48	3.48	3.48	3.48
26	3.53	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.42	3.43	3.43	3.43	3.43	3.43
27	3.50	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.38	3.39	3.39	3.39	3.39	3.39
28	3.46	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.34	3.35	3.35	3.35	3.35	3.35
29	3.43	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.30	3.31	3.31	3.31	3.31	3.31
30	3.40	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.26	3.27	3.27	3.27	3.27	3.27
40	3.27	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.11	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12
60	3.16	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.97	2.98	2.98	2.98	2.98	2.98
120	3.08	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.86	2.87	2.87	2.87	2.87	2.87
$\infty$	3.00	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.75	2.76	2.76	2.76	2.76	2.76

## ANEXO 15

### TABLA DE DISTRIBUCIÓN F AL 95 %

**Tabla V** Valores de  $F_{0.05}$ †

**Grados de libertad del numerador**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
1	161	200	216	225	230	234	237	239	241	242	244	246	248	249	250	251	252	253	254
2	18.5	19.0	19.2	19.2	19.3	19.3	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.4	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5
3	10.1	9.55	9.28	9.12	9.01	8.94	8.89	8.85	8.81	8.79	8.74	8.70	8.66	8.64	8.62	8.59	8.57	8.55	8.53
4	7.71	6.94	6.59	6.39	6.26	6.16	6.09	6.04	6.00	5.96	5.91	5.86	5.80	5.77	5.75	5.72	5.69	5.66	5.63
5	6.61	5.79	5.41	5.19	5.05	4.95	4.88	4.82	4.77	4.74	4.68	4.62	4.56	4.53	4.50	4.46	4.43	4.40	4.37
6	5.99	5.14	4.76	4.53	4.39	4.28	4.21	4.15	4.10	4.06	4.00	3.94	3.87	3.84	3.81	3.77	3.74	3.70	3.67
7	5.59	4.74	4.35	4.12	3.97	3.87	3.79	3.73	3.68	3.64	3.57	3.51	3.44	3.41	3.38	3.34	3.30	3.27	3.23
8	5.32	4.46	4.07	3.84	3.69	3.58	3.50	3.44	3.39	3.35	3.28	3.22	3.15	3.12	3.08	3.04	3.01	2.97	2.93
9	5.12	4.26	3.86	3.63	3.48	3.37	3.29	3.23	3.18	3.14	3.07	3.01	2.94	2.90	2.86	2.83	2.79	2.75	2.71
10	4.96	4.10	3.71	3.48	3.33	3.22	3.14	3.07	3.02	2.98	2.91	2.85	2.77	2.74	2.70	2.66	2.62	2.58	2.54
11	4.84	3.98	3.59	3.36	3.20	3.09	3.01	2.95	2.90	2.85	2.79	2.72	2.65	2.61	2.57	2.53	2.49	2.45	2.40
12	4.75	3.89	3.49	3.26	3.11	3.00	2.91	2.85	2.80	2.75	2.69	2.62	2.54	2.51	2.47	2.43	2.38	2.34	2.30
13	4.67	3.81	3.41	3.18	3.03	2.92	2.83	2.77	2.71	2.67	2.60	2.53	2.46	2.42	2.38	2.34	2.30	2.25	2.21
14	4.60	3.74	3.34	3.11	2.96	2.85	2.76	2.70	2.65	2.60	2.53	2.46	2.39	2.35	2.31	2.27	2.22	2.18	2.13
15	4.54	3.68	3.29	3.06	2.90	2.79	2.71	2.64	2.59	2.54	2.48	2.40	2.33	2.29	2.25	2.20	2.16	2.11	2.07
16	4.49	3.63	3.24	3.01	2.85	2.74	2.66	2.59	2.54	2.49	2.42	2.35	2.28	2.24	2.19	2.15	2.11	2.06	2.01
17	4.45	3.59	3.20	2.96	2.81	2.70	2.61	2.55	2.49	2.45	2.38	2.31	2.23	2.20	2.15	2.10	2.06	2.01	1.96
18	4.41	3.55	3.16	2.93	2.77	2.66	2.58	2.51	2.46	2.41	2.34	2.27	2.19	2.15	2.11	2.06	2.02	1.97	1.92
19	4.38	3.52	3.13	2.90	2.74	2.63	2.54	2.48	2.42	2.38	2.31	2.23	2.16	2.11	2.07	2.03	1.98	1.93	1.88
20	4.35	3.49	3.10	2.87	2.71	2.60	2.51	2.45	2.39	2.35	2.28	2.20	2.12	2.08	2.04	1.99	1.95	1.90	1.84
21	4.32	3.47	3.07	2.84	2.68	2.57	2.49	2.42	2.37	2.32	2.25	2.18	2.10	2.05	2.01	1.96	1.92	1.87	1.81
22	4.30	3.44	3.05	2.82	2.66	2.55	2.46	2.40	2.34	2.30	2.23	2.15	2.07	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.78
23	4.28	3.42	3.03	2.80	2.64	2.53	2.44	2.37	2.32	2.27	2.20	2.13	2.05	2.01	1.96	1.91	1.86	1.81	1.76
24	4.26	3.40	3.01	2.78	2.62	2.51	2.42	2.36	2.30	2.25	2.18	2.11	2.03	1.98	1.94	1.89	1.84	1.79	1.73
25	4.24	3.39	2.99	2.76	2.60	2.49	2.40	2.34	2.28	2.24	2.16	2.09	2.01	1.96	1.92	1.87	1.82	1.77	1.71
30	4.17	3.32	2.92	2.69	2.53	2.42	2.33	2.27	2.21	2.16	2.09	2.01	1.93	1.89	1.84	1.79	1.74	1.68	1.62
40	4.08	3.23	2.84	2.61	2.45	2.34	2.25	2.18	2.12	2.08	2.00	1.92	1.84	1.79	1.74	1.69	1.64	1.58	1.51
60	4.00	3.15	2.76	2.53	2.37	2.25	2.17	2.10	2.04	1.99	1.92	1.84	1.75	1.70	1.65	1.59	1.53	1.47	1.39
120	3.92	3.07	2.68	2.45	2.29	2.18	2.09	2.02	1.96	1.91	1.83	1.75	1.66	1.61	1.55	1.50	1.43	1.35	1.25
$\infty$	3.84	3.00	2.60	2.37	2.21	2.10	2.01	1.94	1.88	1.83	1.75	1.67	1.57	1.52	1.46	1.39	1.32	1.22	1.00

**Grados de libertad del denominador**

**ANEXO 16**  
**CÁLCULOS ESTADÍSTICO DE LAS MUESTRAS.**  
**ANÁLISIS DE VARIANZAS**

$$\text{Gran Media } \bar{\bar{X}} = \frac{\sum X_{ij}}{N} = \frac{2.27}{12} = 2.28$$

Variación total (suma total de cuadrados)

$$SST = \sum (X_{ij} - \bar{\bar{X}})^2 = SSB + SSW$$

$$SST = \left\{ \begin{array}{l} (4.89 - 2.28)^2 \\ (4.89 - 2.28)^2 \\ (4.76 - 2.28)^2 \\ (4.73 - 2.28)^2 \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} (1.28 - 2.28)^2 \\ (1.36 - 2.28)^2 \\ (1.36 - 2.28)^2 \\ (1.50 - 2.28)^2 \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} (0.63 - 2.28)^2 \\ (0.64 - 2.28)^2 \\ (0.61 - 2.28)^2 \\ (0.66 - 2.28)^2 \end{array} \right\} = 39.90$$

$$SSB = \sum n (\bar{X}_j - \bar{\bar{X}})^2 = 4 [(4.82 - 2.28)^2 + (1.38 - 2.28)^2 + (0.63 - 2.28)^2] = 39.86$$

$$SSW = \sum (X_i - \bar{X}_j)^2 = \left\{ \begin{array}{l} (4.89 - 4.82)^2 \\ (4.89 - 4.82)^2 \\ (4.76 - 4.82)^2 \\ (4.73 - 4.82)^2 \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} (1.28 - 1.38)^2 \\ (1.36 - 1.38)^2 \\ (1.36 - 1.38)^2 \\ (1.50 - 1.38)^2 \end{array} \right\} + \left\{ \begin{array}{l} (0.63 - 0.63)^2 \\ (0.64 - 0.63)^2 \\ (0.61 - 0.63)^2 \\ (0.66 - 0.63)^2 \end{array} \right\} = 0.05$$

$$\text{Entonces: } SST = SSB + SSW = 39.86 + 0.05 = 39.90$$

▪ **Distribución F**

Grados de libertad = C-1

$$MSB = \frac{SSB}{df_B} = \frac{SSB}{c-1} = \frac{\sum n (\bar{X}_j - \bar{\bar{X}})^2}{(3-1)} = \frac{39.84}{(3-1)} = 19.93$$

Grados de  
Libertad entre  
Grupos

$$MSW = \frac{SSW}{df_w} = \frac{\sum (X_i - \bar{X}_j)^2}{n-c} = \frac{SSW}{n-c} = \frac{0.05}{(12-3)} = 0.01$$

$$F \text{ teórico: } F_{(df_B, df_w)} = F_{(2,9)} = \frac{MSB}{MSW} = 3746.22$$

$$F \text{ tabulado: } df_B = c-1 = 3-1=2 \quad \text{y} \quad df_w = n-c = 12-3=9$$

Buscar en la tabla (Anexo 15) de distribución F 2 en la columna y 9 en las filas.  
 Donde para este caso F = 4.26.