# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA UNAN-LEON. FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS.

#### CARRERA DE FARMACIA.



#### POR LA PERTINENCIA Y EXCELENCIA ACADEMICA

Tesis para optar al Título de Químico Farmacéutico.

#### TEMA.

Determinación del contenido de hierro, saponinas y porfirinas en *Cassia grandis L*, procedente de Masaya, Chinandega y Jalapa durante el periodo mayo 2013, abril del 2014.

#### **AUTORES.**

- Br. Eddy Fermín Ramos Benavides.
- Br. José Santos Paz Varela.
- **\$\text{Br. Gerald Francisco Ortiz Sánchez.}**

Tutor: Lic. Kelvin José Núñez Martínez.

León, junio de 2014.

"A LA LIBERTAD POR LA UNIVERSIDAD"

#### AGRADECIMIENTO.

Agradecemos primeramente a Dios nuestro creador por regalarnos vida, fuerza y sabiduría, hasta hoy que estamos alcanzando esta meta nuestra y de nuestra familia.

A nuestros familiares por habernos brindado todo el apoyo moral y económico durante el largo camino de nuestra formación profesional.

A los maestros que nos brindaron ciencia y nos formaron semblante desde la primaria hasta estos estudios universitarios, en especial al **Lic. Kelvin José Núñez,** por su accesibilidad, amabilidad y apoyo que nos dio durante la tutoría de este trabajo monográfico.

**Al Lic. Cesar Peralta**, por las observaciones y el apoyo que nos brindó en nuestras breves consultas.

A todas aquellas personas que de una u otra forma fueron sustanciales durante la elaboración de este trabajo investigativo.

#### **DEDICATORIA**

#### Eddy Fermín Ramos Benavides.

Por el apoyo recibido para finalizar mi carrera y realizar este estudio menciono a:

**Dio**s: por ser quien me permite la vida dia a dia y ofrece nuevas oportunidades para modular nuestro carácter, actitud y ser mejores cada dia. Desempeñarme eficientemente durante todo el trayecto de la carrera y lograr la culminación de la misma con éxito a pesar de las dificultades que se presentaron a lo largo del camino.

**Mis padre**s: Eddy Fermín Ramos y Rosa Argentina Benavides por haber recibido de ellos la vida asi como los estudios y apoyo moral e incondicional que me impulso a seguir adelante a pesar de las dificultades económicas que se nos presentaron y encaminarme asi, a ser una persona de bien, responsable y con visión de futuro.

**Mis abuelos:** Carlos Manuel Benavides y Felicita Amalia Méndez por los consejos y cariño brindado que me motivaron a seguir adelante independientemente de los obstáculos que se presentaron

**Mis hermanos**: Arlen Alexander Ramos y Thelma Lucia Ramos por haberme brindado su apoyo en todo momento y haber estado siempre en los momentos más difíciles.

Mi tío: Luis Manuel Benavidez Sánchez por haber sido como un padre al estar pendiente de mis estudios y brindar además de su amistad y cariño sincero sus consejos e inspiración y orgullo para llegar a ser una persona grande en conocimiento pero sobre todo grande de corazón y poder servir con toda voluntad a quienes necesitan sin nada a cambio, de practicar la solidaridad, el respeto, y sobre todo la humildad. De ser eficiente y eficaz en todo y culminar mi carrera con éxito total.

**Mis amigos**: Dr. Braulio Espinoza, Dr. Andrés herrera, Dixon Rivera, Aroldo Pérez, Carlos Martínez y Eduardo Cuevas por su apoyo moral para el logro del éxito alcanzado.

**Mis compañeros**: por todas las consideraciones, cariños y apoyo recibido en cada uno de los momentos vividos a lo largo de la carrera.

#### **DEDICATORIA**

José Santos Paz Varela.

**A Dios:** por ser luz, aliento de vida, fuente de sabiduría, protección y modelo a seguir en todos los momentos de mi vida, porque sin su voluntad y su amor no hubiese sido posible nada de lo que en esta vida me he propuesto.

A la memoria de mi padre: José Santos Paz Ríos, por haberme dado el ser y a mi madre Igdonora Varela Ordoñez, por haberme permitido nacer y que con sus ánimos de conducirme hacia un futuro mejor, con todo su cariño me guio de la mejor manera posible en esta vida, apoyándome, escuchándome y aconsejándome en todos mis momento.

**A mis abuelas:** Francisca Ríos y Adília Ordoñez, por tener siempre ese semblante y manera de ser que marcan un modelo de vida a seguir.

**A mis hermanos:** que anuentemente me aconsejaron y en cuanto les fue posible me ayudaron a lograr este sueño, en especial a mi hermana Jeaneth Paz Varela, que desde el inicio me regalo su confianza y apoyo de forma incondicional y que siente este logro como un logro nuestro.

**A la Ing.** Xochilt Moncada Cruz por haber sido una persona esencial y de especial motivación durante este periodo.

**A mis colegas y amigos**: Dixon Smith Rivera, Carlos Martínez y Aroldo Pérez por su apoyo, durante todo este proceso formativo.

#### **DEDICATORIA.**

#### Gerald Francisco Ortíz Sánchez.

**Primeramente a Dios:** le dedico todos mis esfuerzos y logros ya que sin él no hubiese logrado cumplir mis metas. Gracias por haberme dado la vida, tu un ser incondicional que no te vemos pero te sentimos, gracias por forjar en mí una persona de bien.

A mis padres: son un pilar fundamental tanto económicamente como moral, gracias por sus consejos y enseñanzas, que con sacrificios no descansaron para formar en mí una persona con principios y actitudes, mi madre que nunca me dijo que "no", siempre busco respuesta a mis preguntas, el ser más hermoso que me regalo Dios. Mi padre que a pesar de tener un carácter fuerte me regalo parte de su tiempo dándome palabras de aliento para salir adelante.

**A mis hermanos:** de una u otra manera me apoyaron gracias por haber compartido tristezas, alegrías, enojos, sé que siempre puedo contar con ellos en las buenas y en las malas.

**A mis abuelos:** ya que son mis segundos padres que a pesar de las diferencias siempre me apoyaron y aconsejaron para seguir adelante con visión de futuro.

El principio de la sabiduría es el temor de jehová, los insensatos desprecian la sabiduría y la enseñanza. (Proverbios 1:7)

El que ama la instrucción ama la sabiduría, más el que aborrece la represión es ignorante. (Proverbios 12:1)

# Índice.

1.	Introducción1
2.	Objetivos
	a. Generales y Específicos
3.	Marco Teórico
	3.1-Ficha botánica4
	3.2-Descripcion y hábitat de la planta4
	3.3- Composición química5
	3.4- Metabolitos secundarios5
	3.4.1- Origen de los metabolitos5
	3.4.2- Factores bióticos y su influencia sobre los metabolitos6
	3.4.3- Factores abióticos y su influencia
	3.5- Factores que afectan la disponibilidad de nutrientes en el suelo8
	3.6- Competencia y sinergismo entre nutrientes9
	3.7- Los suelos de Nicaragua9
	3.7.1- Características químicas del suelo de Nicaragua11
	3.8- clima de Nicaragua11
	3.9- Metabolitos en estudio15
	3.9.1- Saponinas
	3.9.2- Porfirinas17
	3.9.3- Hierro19

<b>3.10- Espectrofotometría19</b>
3.11- Espectroscopia de absorcion atómica21
4- Materiales y método
5- Procedimiento de trabajo30
5.1- Materiales30
5.2- Recolección del material vegetal30
5.3- Extracción de la pulpa del Carao30
5.4- Maceración del material vegetal en alcohol30
5.5- Determinación de solidos totales31
5.6- Procedimiento para la cuantificación de hierro32
5.7- Procedimiento para la cuantificación de saponinas33
5.8- Procedimiento para la cuantificación de Porfirinas34
6- Resultados y Análisis de resultados35
6.1- Descripción de los extractos35
6.2- Mejor relación droga solvente36
6.3- Resultados del análisis de hierro en las muestras de Carao38
6.4- Resultados de la cuantificación de saponina39
6.5- Resultado de la cuantificación de Porfirinas41
7- Conclusiones
8- Recomendaciones
9- Referencias bibliográficas44
10- Anexos



#### 1- Introducción.

El carao de forma natural es una planta endémica de américa central, históricamente su fruto ha sido utilizado en esta región para tratar la anemia ya que a este se le atribuye tal propiedad, el metabolito principal del efecto farmacológico se considera que es el hierro, el contenido de este metabolito en la planta puede ser afectado por varios factores ambientales, como lo es el tipo de suelo, que varía de una región a otra, variando también la riqueza mineral del mismo lo que condiciona el desarrollo y la síntesis de metabolitos necesarios en la planta, el clima que igualmente varia por zonas e inclusive el mismo hombre con sus actividades de desarrollo e industrialización que contaminan el medio ambiente influye sobre el contenido y la calidad de metabolitos en la planta.

Considerando lo anterior se evaluará el contenido de tres metabolitos intrínsecamente relacionados en la atribuida actividad antianémica del fruto de esta planta, primero El hierro que unido a una porfirina forma el llamado grupo Hemo de la sangre, las porfirinas que es un metabolito análogo del grupo hemo, que forma un quelato con el hierro o el magnesio, originando en las plantas lo que comúnmente conocemos como clorofilas y por último se estudiaran las saponinas que son glucósidos con actividad antioxidante y que su núcleo esteroidal es un importante precursor en la síntesis de las porfirinas, este estudio se realizara en muestras de carao recolectadas de tres regiones del país que consideramos distintas en cuanto a clima y suelo, estas son Chinandega (occidente.), Masaya (sur) y Jalapa (norte), las muestras se evaluarán en las mismas condiciones y bajo el mismo método de análisis siendo el estudio de estas cuali-cuantitativo.

Aunque no tenemos antecedentes de estudios donde se haya tomado en cuenta la procedencia del carao antes de estudiarlo, los hay de otro tipo.

El estudio el hierro han sido ampliamente realizado en esta universidad, En 2011 estudiantes de la facultad de veterinaria, realizaron un estudio cuantitativo de hierro en tres especies vegetales, (moringa oleífera, smilax raguelli y smilax domingenes.) que popularmente son usados como tratamiento alternativo de algunos estados de anemia en las personas, los resultados del estudio mostraron, que estas poseían una cantidad considerable del metabolito justificando de ese modo el uso de las mismas. (1)



En el año 2011 en la facultad de ciencias químicas de la UNAN-León fue estudiado la estabilidad y el contenido de hierro en un producto terminado de *Cassia grandis L*, <sup>(2)</sup>

Al igual que la actividad hematopoyética en un extracto fluido de esta planta donde se demostró que la administración de *Cassia grandis* en ratas generó, una respuesta positiva al tratar la anemia ferropénica inducida. <sup>(3)</sup>

Otro estudio se realizó en Venezuela, Cuba, Colombia y México en el año 2006 donde fue evaluada, la utilidad del *Cassia grandis L* como suplemento alimenticio para animales, en el instituto nacional de investigaciones agrícolas de cada país donde se comprobó la riqueza de metabolitos que esta planta posee. <sup>(4)</sup>

En Nicaragua el uso de medicamentos naturales ocurre muy a menudo y en su mayor parte sin prescripción médica, estos productos muchas veces son de procedencia desconocida y de muy mala calidad, a pesar que el RTCA de productos naturales medicinales para uso humanoverificación de la calidad establece una serie de pruebas analíticas que se deben realizar para verificar la calidad de los productos naturales por esta causa hemos decidido enmarcar nuestro estudio al análisis cuantitativo de hierro, porfirinas, y saponinas, en *Cassia grandis L* provenientes de tres puntos geográficamente distintos del país (Chinandega, Masaya y jalapa.) con la finalidad de determinar, la zona productora de material vegetal con la mayor cantidad de metabolitos, aportando asi información útil para considerar el punto de recolección de materia prima, para la producción industrial.



# 2- Objetivo general

♣ Determinar el contenido de hierro, saponinas y porfirinas en Cassia grandis L. procedente de Masaya, Chinandega y Jalapa.

### 2.1- Objetivos específicos

- ♣ Determinar la mejor relación droga solvente y concentración de solvente para el proceso extractivo de las muestras de Cassia grandis L recolectadas de Masaya, Chinandega y Jalapa.
- ♣ Cuantificar el contenido de saponinas y porfirinas mediante espectrofotometría UV/Visible en muestras de Cassia grandis L recolectada de Masaya, Chinandega y Jalapa.
- ♣ Valorar el contenido de hierro, por espectrofotometría de absorción atómica en muestras de Cassia grandis L procedentes de Masaya, Chinandega y Jalapa.



#### MARCO TEORICO.

#### 3.1- Ficha botánica de Cassia grandis L.

Nombre científico: Cassia grandis L

Familia. Fabaceae

Género. Cassia

Especie. Cassia grandis

Clase. Magnoliopsida

Subclase. Rosidae



Figura N° 1

**Nombres comunes**: Cañafístula grabde, guauhuayo, carao, caragua, sándalo, gigantón, batón casse, maremare, cazadoras, jeneuma, cimarrona. (5)

#### 3.2- Descripción botánica y hábitat.

Árbol de 15-30 metros de altura y de 45-100 cm de diámetro, fuste cilíndrico que se ramifica desde la parte media; copa redonda con unos 8m de diámetro; la corteza es de color gris pardusco liza, lenticelada longitudinalmente con un grosor de 30 mm. (5)

Las hojas son compuestas, alternas, paripinnadas, con 15 a 20 pares de hojuelas opuestas, oblongas de 2-5 cm de largo y de 1-1.5 cm de ancho, ápice mucronado, base redondeada, envés verde claro, y haz verde oscuro, pubescente. (5)

Las inflorescencias en racimos axilares o terminales, con 15 o más flores de color rosado intenso, zigomorfas, cáliz de 1.3-1.5 cm de largo corola con 5 pétalos glabros, estambres dorsifijos, de antera pubescente. (5)

Los frutos son vainas cilíndricas, leñosas, café oscuras o negruzcas de 40 a 65 cm de largo y de 4-5 cm de ancho indehiscente; internamente divididas en tabiques, con una semilla aplanada en cada tabique. (5)



La madera tiene un peso específico de 0.76 g/cm³ el duramen es de color café amarillento, con vetas oscuras y la albura castaño pálido. Tienen brillo mediano, textura gruesa, hilo entrecruzado, olor y sabor no característicos. Es moderadamente fácil de trabajar, se usa para muebles rústicos, columnas vigas, ebanisterías y mangos para herramientas. (5)

# 3.3- Composición química.

Los estudios de caracterización química demuestran la presencia de esteroides, terpenos, aceites esenciales, azúcares reductores, aminoácidos, aminas, saponinas, glicósidos y polisacáridos. También posee minerales tales como potasio, magnesio, cobalto, hierro y níquel. <sup>(6)</sup>

#### 3.4- Metabolito secundario.

Son moléculas de bajo peso molecular que por definición no son requeridos en procesos fisiológicos normales como crecimiento o desarrollo y los cuales tienden a tener una actividad más específica en ciertas especies, que los metabolitos primarios. Estos metabolitos pueden ser producidos o almacenados en glándulas, ductos resiníferos, idioblastos y células especializadas.<sup>(7)</sup>

#### 3.4.1- Origen de los metabolitos secundarios y factores que modifican su síntesis.

De manera general el origen de los metabolitos secundarios, inicia con la respiración o fotosíntesis de las plantas por medio de la cual se generan las moléculas precursoras como: monosacáridos, acido pirúvico y acetil CoA. El ritmo de síntesis por estas vías puede modificarse por factores bióticos y abióticos. (7)

#### • Bióticos:

- Plantas.
- Animales.
- microorganismos.
- hombres.

#### Abióticos:

- Atmosfera.
- Radiación solar.
- Régimen térmico del suelo.
- Humedad.
- temperatura.



#### 3.4.2- Factores bióticos y su influencia:

**Plantas:** al crecer juntas en un determinado lugar se establecen relaciones competitivas y adaptativas que dan como resultado la supervivencia de los organismos más adaptados a las condiciones imperantes en el sitio de la ubicación. Estas relaciones conducen al establecimiento de un equilibrio entre las plantas y los factores del ambiente teniendo entonces las plantas que alterar sus rutas metabólicas para poder obtener los nutrientes necesarios para su supervivencia en las condiciones establecidas. <sup>(7)</sup>

Animales: establecen las relaciones de dependencia, por ejemplo el animal consume la planta como alimento o cuando el animal distribuye las semillas de la planta, cualquier alteración en este sentido puede acarrear fatales consecuencias para uno o para otro. La polinización y dispersión de propagulos son otras dos actividades en las cuales se le establecen relaciones de dependencia entre la planta y el animal. Los animales que actúan como controles biológicos de plagas que atacan a las plantas son otras de las relaciones que se establecen entre la plantas y animales, esto influyen sobre la presencia de metabolitos en las plantas. (7)

**Microorganismos:** en este caso, esta la relación con los *rhyzobius*, que ayudan a la absorción de nitrógeno del suelo y a la asimilación del mismo por la planta y los que ayudan a absorber el nitrógeno del aire estos casos en respuestas a microorganismos patógenos, las plantas forman nódulos o agallas que determinan ciertos cambios en el metabolismo que pueden alterar la composición química de la planta como sucede en el caso de las ixoras donde aparecen los nódulos con *Micobacterium rubiaceum* que permite la asimilación del nitrógeno atmosférico. <sup>(7)</sup>

**El hombre:** es el que mas incide sobre la naturaleza y de manera particular, sobre las poblaciones naturales de plantas al modificar la naturaleza para satisfacer sus necesidades modificando el medio mediante la:

- 1. Expulsion a la atmosfera de gases residuales de la industria.
- 2. Utilizacion indiscriminda de plaguicidas y fertilizantes de origen sintetico y quimico.
- 3. Construcciones de grandes obras de irrigacion, presas, carreteras, centrales hidroelectricas, etc. Que producen grandes movimientos de tierra con la alteracion del ecosistema.
- 4. Tala indiscriminada de bosques para diversos usos con la consigiente deforestacion.



- 5. Destrucción de los suelos por la utilización de tecnicas agropecuarias no acordes a la s características prpopias de los mismos.
- 6. Contaminacion de las corrientes superficiales y subterraneas de agua. (7)

#### 3.4.3 - Factores abióticos:

La atmosfera: resulta fundamental, pues la planta como ser vivo, extrae elementos gaseosos para su desarrollo, el vapor de agua de importancia para los procesos físicos en el ámbito celular, el contenido de ozono vincula estrechamente la absorción de energía, el polvo atmosférico que interfiere en la difusión de la luz. Estos y otros factores atmosféricos actúan directamente sobre los procesos metabólicos de las plantas alterando los mismos de forma notable. (7)

La radiación solar: influye sobre todo en el proceso de fotosíntesis, el cual necesita de la misma para la producción de los productos necesarios para la nutrición de la planta. En esto influye el ángulo de incidencia de la radiación, las variaciones anuales e inclusive diarias de la intensidad las cuales deben ser tenidas en cuenta al producir plantas medicinales pues las disminuciones y aumentos de la radiación solar influyen directamente en las concentraciones de alcaloides en plantas de la familia de las solanáceas. (7)

**Régimen térmico del suelo:** la temperatura del suelo influye sobre las plantas de forma importante en el caso de la germinación en el desarrollo de la raíz, sostén y fuentes de entradas de nutrientes y por tanto del crecimiento y desarrollo de la planta. <sup>(7)</sup>

**Humedad:** juega un papel fundamental en los procesos fisicos y fisiologicos de la vida de las plantas, actua directamente sobre la absorcion de nutrientes, el metabolismo y la disminucion de la temperatura superficial y la humedad atmosferica del suelo.

Interviene ademas en la interaccion de la planta con otros factores del clima como la radiacion solar y la temperatura. (7)

**Temperatura:** la temperatura del aire afecta directamente a la plantas en cada una de las etapas de su desarrollo. La necesidad de una temperatura dada varia de acuerdo a la etapa de desarrollo con el resto de los factores ambientales sobre todo la humedad. <sup>(7)</sup>

**Suelo:** sin lugar a duda el suelo es un elemento determinante para la vida y desarrollo de las plantas y en muchos casos, un factor de los más determinantes en relación con su distribución.



Resulta necesario tener en cuenta tanto la estructura química como la física de los suelos, la naturaleza física depende ante todo de textura y estructura. La textura está determinada por el tamaño de las partículas constituyentes y la estructura depende del grado de agregación de estas partículas en la parte inalterada del suelo. (7)

**Viento:** relacionado con procesos físicos y biológicos de la planta como son la polinización, dispersión de la semillas y esporas, la erosión y la transpiración. El viento ejerce además importantes acciones sobre otros factores del ambiente como la humedad y la temperatura del aire local. <sup>(7)</sup>

**Relieve:** influye sobre importantes factores como la intensidad de las radiaciones solares y su ángulo de incidencia, composición de la atmosfera precipitaciones y temperaturas actuando de manera intensa sobre el comportamiento de las plantas, provocando cambios en su composición fotoquímica, los cuales incluyen afectación en algunos metabolitos con el aumento de unos y la disminución de otros por lo que es necesario tener en cuenta hasta el momento de desarrollar el cultivo de plantas que se utilizaran en la producción de fitofármacos. <sup>(7)</sup>

#### 3.5- Factores que afectan la disponibilidad de los nutrientes.

**Humedad del suelo:** la humedad del suelo es fundamental porque la planta toma la mayor proporción de nutrientes en forma iónica y disuelto en la solución del suelo. Sin agua en el suelo los nutrientes no se vuelven solubles, no ocurre el equilibrio entre la arcilla y la solución y no hay mineralización de la materia orgánica, todos los procesos de absorcion solo se realizan en presencia de agua <sup>(8)</sup>.

**pH del suelo**: la reaccion del suelo o pH es el indicador de la actividad del ion hidrogeno en el suelo, la reaccion del suelo es uno de los factores que mayormente afecta la disponibilidad, la mayor disponibilidad se encuentra entre los valores de pH 5.5 y 6.5. (8)

La aireación: el aire en el suelo y alrededor de la superficie radicular es otro factor vital para la disponibilidad de los elementos nutritivos generalmente, la falta de aire ocurre cuando hay falta de agua que los desplaza de los poros, en ausencia o deficiencia de oxigeno las raíces no crecen ni se alimentan y cesa la acción de los microorganismo que convierte el nitrógeno amoniacal a nitrato y el ácido sulfhídrico a sulfato. Todo lo contrario, los microorganismos aeróbicos utilizan el oxígeno de las formas oxidadas y los nutrimentos se pierden en forma gaseosa. (8)



La materia orgánica: tiene una gran capacidad de retener los elementos en forma intercambiables de fácil y rápido equilibrio con la solución en el suelo, en términos químicos se dice que posee una alta capacidad de intercambio catiónico además los elementos mantenidos en la materia orgánica no se pierden fácilmente por efecto de la lixiviación o volatilización. (8)

#### **3.6-** Competencia y sinergismo entre los nutrientes.

Altas cantidades de un determinado nutrimento puede dificultar o impedir la absorcion de otro produciendo la competencia o bloqueo por ejemplo los balances en las relaciones de las bases  $K^{+}$ ,  $Ca^{+2}$ ,  $y Mg^{+2}$ . (8)

Contrariamente la presencia de un determinado nutriente puede favorecer la absorcion de otro lo que se conoce como sinergismo o compatibilidad. <sup>(8)</sup>

#### 3.7- Los suelos de Nicaragua.

Considerando las características físicas y topográficas de los suelos se pueden clasificar de acuerdo a las principales macro regiones del país.

La Región del Occidente presenta la mayor distribución de suelos, considerados por sus características fisicoquímicas como los mejores del país para la producción de cultivos anuales intensivos, Se caracterizan por ser profundos; bien drenados; de texturas moderadamente gruesas, medias, finas y muy finas; con una alta fertilidad aparente y desarrollados a partir de cenizas volcánicas básicas. (9)

Los suelos se clasifican taxonómicamente como Eutrandepts (texturas medias y alta fertilidad); Vitrandepts (texturas moderadamente gruesas y alta fertilidad.); Ustorthents (texturas gruesas y baja fertilidad); Argiustolls y Haplustolls (texturas finas y alta fertilidad) y Vertisoles (texturas muy finas y alta fertilidad). (9)

En la Región del Pacifico Central, comprendida por el departamento de Managua, se presentan suelos desarrollados en su mayoría de cenizas volcánicas y de rocas sedimentarias en la franja costera del Pacífico. Estos generalmente son de moderados a profundos (60 a 100 cm) de texturas gruesas, medias, finas y muy finas; de bien a imperfectamente drenados y con una alta fertilidad aparente. Los suelos han sido clasificados taxonómicamente como: Eutrandepts



(texturas medias), Vitrandepts (texturas moderadamente gruesas), Argiustolls, Haplustolls y Argiustalfs (texturas finas), y Vertisoles (texturas muy finas). (9)

La región del Pacifico en dirección Sur (Masaya, Granada, Carazo y Rivas) presenta suelos de origen volcánico y rocas sedimentarias. En la cordillera del Pacífico los suelos varían de poco profundos a profundos (40 a > 100 cm.); los profundos presentan desde texturas gruesas, medias y finas, hasta muy finas. El drenaje interno varía de bueno a imperfecto, y tiene una alta fertilidad aparente. En la zona costera del Pacífico los suelos se han desarrollado a partir de rocas sedimentarias. (9)

La zona de las Segovias presenta una litología muy variada, constituida por: sedimentos aluviales, rocas volcánicas básicas y ácidas (basaltos, andesitas, etc.), rocas ígneas (granitos), rocas metamórficas (mármoles) y sedimentarias (esquistos), dando origen a suelos de características bien definidas de acuerdo a las condiciones climáticas dominantes. La profundidad de los suelos varía desde superficiales (<25 cm), hasta profundos (>100 cm), variaciones que obedecen a la topografía del terreno. Los suelos son bien drenados; con una fertilidad aparente que varía de baja a alta; taxonómicamente se han clasificado como: Ustorthents (arenosos), Haplustolls, Hapludolls y Argiudolls (arcillosos), y Vertisoles (muy arcillosos). (9)

Los suelos de la Región Central en los departamentos de Matagalpa y Jinotega, de acuerdo a las variaciones litológicas, se desarrollaron a partir de rocas volcánicas básicas (basaltos, andesitas, etc.) en las zonas montañosas, y en los valles intramontanos de sedimentos aluviales. Presentan profundidades que varían desde muy superficiales (<25 cm), hasta profundos (>100 cm), que obedecen al grado de erosión de acuerdo a la posición topográfica del terreno, en general predominan los moderados a profundos (>60 cm.); son bien drenados; la fertilidad aparente es generalmente alta; las texturas varían entre medias (Haplustolls), finas (Argiudolls y Argiudalfs), y muy finas (Vertisoles). (9)

En los departamentos de Boaco y Chontales, los suelos se han desarrollado generalmente a partir de rocas volcánicas básicas en la zona montañosa (basaltos, andesitas, etc.), y en las planicies costeras del Lago Cocibolca por sedimentos aluviales. La profundidad varía desde muy superficiales (<de 25 cm), hasta profundos (>de 100 cm), variaciones que obedecen al grado de erosión y a la posición topográfica del terreno, predominando los moderados a profundos (> de



60 cm.); son bien drenados, la fertilidad aparente es generalmente alta, las texturas varían de medias (Haplustolls), finas (Argiudolls y Argiudalfs), y muy finas (Vertisoles). (9)

En la Región Caribe Norte y Sur los suelos se desarrollaron a partir de rocas volcánicas básicas en las planicies intermedias y zonas montañosas (basaltos, andesitas, etc.) y por rocas sedimentarias y sedimentos aluviales en las extensas planicies costeras del Océano Atlántico. Por las condiciones del trópico húmedo, varían generalmente de ácidos a muy ácidos. La profundidad efectiva fluctúa de moderada a muy profunda (60 a >100 cm), variaciones que obedecen a la erosión de acuerdo a la topografía del terreno. La fertilidad aparente es de baja a muy baja por procesos de lixiviación y altas concentraciones de hierro, aluminio y manganeso (pH ácido a muy ácido); las texturas son predominantemente arcillosas con mucha friabilidad. Taxonómicamente han sido clasificados como Tropudalfs (fertilidad media), Tropudults. (9)

## 3.7.1- Características químicas de los suelos de Nicaragua.

**Hierro:** El hierro ocurre en abundancia en la mayoría de suelos agrícolas. En las regiones II (león y Chinandega) y IV (Masaya, Rivas y Carazo) los contenidos de hierro disponibles son mayores que 100 ppm, La disponibilidad de hierro es superior en valores de pH entre 4 y 6 pero los cultivos agrícolas son capaces de absorberlos en cantidades adecuadas aun en suelos con pH próximos al neutro. (9)

#### Nitrógeno.

La disponibilidad de este elemento en los suelos depende del contenido de materia orgánica. La deficiencia de nitrógeno se verifican con mayor frecuencia en suelos degradados por manejos inadecuados y con bajas disponibilidad de materia orgánica en condiciones favorables a los procesos de mineralización. (9)

#### 3.8- Clima de Nicaragua.

El clima de la Región de Occidente, según la clasificación de Köppen, corresponde a "Tropical de Sabana", que se caracteriza por ser caliente, subhúmedo con lluvias en el verano y otoño astronómico y régimen de temperaturas isotérmico. Según la clasificación bioclimática de Holdridge corresponde a zonas de vida subtropical húmeda y caliente en las planicies de Chinandega y León.



En la cuenca Norte y Sur del lago Xolotlán, en Managua, corresponde a la zona de vida subtropical seca y caliente. Las zonas por encima de los 500 metros sobre el nivel del mar, corresponden a zonas de vida subtropical húmeda a muy húmeda. (9)

Los regímenes de temperatura media anual son calientes en las zonas bajas de las planicies y frescas en las zonas montañosas de la Cordillera de los Maribios y Tierras Altas del Interior (22 a 26°C). La precipitación media anual y la distribución de lluvias varía de 800 mm. en la cuenca del Lago de Managua a 2,000 mm en la Península de Cosigüina.

El periodo lluvioso tiene una duración de seis meses (mayo a octubre), manifestándose entre los meses de julio y agosto un descenso drástico de la precipitación que se conoce con el nombre regional de "canícula", y que presenta diferentes grados de afectación de acuerdo a la duración de la misma (véase mapa de periodos caniculares). <sup>(9)</sup>

Las condiciones climáticas en el Pacifico Central (departamento de Managua), respecto a la temperatura, varía de acuerdo a la altitud, las zonas bajas son calientes (27 a 29°C) y las zonas altas (las Sierras de Managua) son frescas (22 a 24°C); las precipitaciones generalmente son bajas y de tipo irregular en las planicies de la cuenca del Lago de Managua y zonas costeras del Océano Pacífico (800-1,200 mm/año.) presentando además periodos caniculares muy prolongados (>40 días); en el pie de monte y Sierras de Managua, la precipitación varía de 1,300 a 1,700 mm/año, con una distribución regular y periodos caniculares poco prolongados (<30 días). (9)

Las condiciones climáticas en el Pacífico Sur, en cuanto a temperaturas medias anuales, son variables. Las zonas bajas son calientes (27-29°C.) y las altas (Meseta de los Pueblos) son frescas (24-26°C.). La precipitación varía de 900 a 1,200 mm al año, en la cuenca Este del lago de Managua y Oeste del lago Cocibolca, o Gran Lago de Nicaragua, así como en la zona costanera del Pacífico, presentando una distribución irregular y con periodos caniculares muy prolongados (> 40 días). En la Meseta de los Pueblos, que tiene elevaciones de 500 a 900 metros sobre el nivel del mar, la precipitación varía de 1,400 a 1,800 mm/año, con una distribución regular y periodos caniculares de poca duración (10 a 20 días). <sup>(9)</sup>

En la región de las Segovias se identifican cuatro zonas climáticas bien definidas en cuanto a regímenes de temperatura, distribución de lluvias y presencia de periodos caniculares, éstas son las siguientes:



- 1- Zona del trópico seco intermedio: comprende valles intramontanos y lomeríos con elevaciones intermedias (500 a 1,000 metros sobre el nivel del mar.), precipitaciones irregulares en la época de primera (600-800 mm/año), y periodos caniculares muy prolongados (más de 40 días). Las temperaturas son cálidas (24-26°C). (9)
- 2- Zona del trópico húmedo premontano: comprende terrenos con elevaciones intermedias (700 a 1,000 metros sobre el nivel del mar.), caracterizado por temperaturas frescas (22-24°C.), y precipitaciones normales sin presencia de periodos caniculares (1,200-1,600 mm/ año.). Incluye los suelos fértiles de Jalapa, el Jícaro, Quilalí y otros. <sup>(9)</sup>
- 3- Zona del trópico húmedo alto: comprende terrenos con elevaciones mayores de 1,000 m.s.n.m., con temperaturas frías (< de 22°C) y con precipitaciones de 1,600 a 2,000 mm/año.). La conforman la Cordillera de Dipilto, y la zona montañosa al Norte y Noreste del departamento de Nueva Segovia, que presentan excelentes tierras para el cultivo del cafeto. (9)
- 4- Zona de transición al trópico húmedo: comprende terrenos con elevaciones entre los 300 y 500 metros sobre el nivel del mar. con temperaturas cálidas (24-26°C) y precipitaciones medias que varían de 1,600 a 2,000 mm, sin presencia de periodos caniculares y comprende las excelentes tierras productoras de granos básicos. (9)

En la región conformada por los departamentos de Matagalpa y Jinotega, la variedad de pisos altitudinales, formaciones geológicas, orográficas, fisiográficas y topográficas hacen que esta región presente condiciones agroecológicas que diversifican su potencial productivo. Esta variedad de potenciales la definen como una de las más ricas del país. (9)

En esta región se identifican cuatro ecosistemas bien definidos en cuanto a regímenes de temperatura, distribución de lluvias y presencia de periodos caniculares, éstos son los siguientes.

1- Zona del trópico seco intermedio: comprende la unidad fisiográfica de las Mesetas de Estrada y valles intramontanos (Sébaco, Terrabona, Esquipulas). Tiene elevaciones intermedias (300 a 800 metros sobre el nivel del mar), precipitaciones irregulares en la época de primera (800-1,200 mm/año), y periodos caniculares prolongados (más de 30 días). Las temperaturas medias son cálidas durante todo el año (24-26°C). Bioclimáticamente corresponde al bosque seco subtropical. (9)



- 2- Zona del trópico húmedo intermedio: comprende terrenos con elevaciones intermedias (300 a 500 m.s.n.m.), con temperaturas frescas (22-24°C.) y precipitaciones normales sin presencia de periodos caniculares (1,500-2,000 mm/año.). Incluye los suelos fértiles de Pantasma, La Vigía, El Cua-Bocay, con excelentes tierras productoras de granos básicos, corresponden a la zona de vida del bosque húmedo tropical. <sup>(9)</sup>
- 3- Zona del trópico húmedo bajo: comprende terrenos con elevaciones menores de 300 m.s.n.m., con temperaturas cálidas (24-26°C) y precipitaciones altas que varían de 2,000 a 3,000 mm, sin presencia de periodos caniculares. Corresponde a la zona de vida de bosque húmedo tropical. (9)
- 4- Zona del trópico húmedo alto: comprende elevaciones mayores de 1,000 m.s.n.m., con temperaturas frías (< de 22°C) y precipitaciones de 2,000 a 2,500 mm/año.). Se ubican la Cordillera Isabelia, el Macizo de Peñas Blancas, y las zonas montañosas de Matagalpa y Jinotega. Las tierras son excelentes para el cultivo del cafeto. Corresponde a la zona de vida de bosque húmedo montano bajo subtropical. (9)

En la región comprendida por los departamentos de Boaco y Chontales, las condiciones climáticas varían de acuerdo a la fisiografía y altitud de los terrenos. En las planicies costeras del Gran Lago de Nicaragua, la temperatura media anual es caliente (27 a 29°C), y la precipitación varía de baja a irregular (800 a 1,200 mm/año.), con periodos caniculares prolongados (>40 días) en los límites con las regiones del Pacífico Central y Pacífico Sur. (9)

En la Región Caribe Norte, las condiciones climáticas son típicas del ecosistema del trópico húmedo con una variante subtropical en la zona de la sabana de pinares naturales, y tropical en la zona de bosques latifoliados. Las precipitaciones son altas y aumentan de Oeste a Este (2,000 a 3,200 mm/anuales, con un periodo seco de 4 a 5 meses). Las temperaturas medias anuales son generalmente cálidas en las planicies (24 a 27°C), y frescas (23 a 25°C) en los terrenos montañosos de mayor al tura. (9)

En la Región Caribe Sur, las condiciones climáticas son típicas del ecosistema del trópico húmedo, donde ocurren precipitaciones que varían de los 2,000 mm/anuales en la zona Oeste, a 3,000 mm. en ciudad Rama, y 4,250 mm. en Bluefields, con un periodo seco que varía de 2 a 4 meses al año. Las temperaturas son cálidas en las planicies bajas (25 a 27 °C.) y frescas en la zona montañosa con elevaciones de 300 a 700 m.s.n.m. (23 a 25°C.).



En Río San Juan las condiciones climáticas son típicas del ecosistema del trópico húmedo, donde ocurren precipitaciones que varían de los 1,800 mm/anuales (Morrillo-San Carlos, a 3,000 mm). en El Castillo, 4,000 mm. en la Boca de San Carlos, hasta 6,200 mm/año en San Juan del Norte. El periodo lluvioso varía de 7 a 11 meses, dependiendo del incremento de la precipitación. (9)

#### 3.9- Metabolitos en estudio.

**3.9.1- Saponinas:** Son un grupo de glucósidos amorfos coloidales muy hidrosolubles que producen espuma cuando se agita la solución acuosa y que son excelentes agentes emulsionantes. Las saponinas tienen sabor acre. (10)

#### 3.9.1.1- Clasificación de las saponinas.

A Figura N° 2 Figura N° 3 
$$(29)$$
  $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(29)$   $(29)$   $(30)$   $(29)$   $(2$ 

- 1. Aglicona (Saponinas Esteroideas Neutras Triterpenicas Tetraciclicas 27 C).
- 2. Saponinas Esteroideas Acidas Triterpenicas Pentaciclicas 30 C.
- 3. Estructura tipo  $\beta$ -amirina: ácido oleanolico  $R_1=R_2=H$ . (11)

#### 3.9.1.2 Ensayos de reconocimiento

Las saponinas esteroides se pueden reconocer fácilmente en los análisis fitoquímicos preliminares mediante los ensayos de la espuma, hemólisis de glóbulos rojos, Liebermann-Burchard y ensayos para carbohidratos. (12)



- **3.9.1.2.1-** Ensayo de la Espuma: Al agitar una solución acuosa de una muestra que sea o contenga saponinas, se forma una espuma estable como la obtenida al agitar la solución acuosa de un jabón. Puesto que existen otras sustancias que pueden formar también espuma, se debe asumir este ensayo como una prueba presuntiva de la presencia de saponinas esteroides. (12)
- 3.9.1.2.2- Ensayo de Hemólisis: Este ensayo es más confiable que el de la espuma. A una suspensión de glóbulos rojos en solución salina diluida, se añade una solución de la muestra que se presume que es o que contiene saponinas. Si los glóbulos rojos se rompen (lisan o hemolizan), se asume que la prueba es positiva. Este ensayo puede realizarse en tubo de ensayo, en cajas de Petri con agar-sangre o en cajas de Petri con gelatina-sangre51. Cuando la muestra contiene taninos, deben eliminarse antes de realizar la prueba ya que la interfieren. Esto se logra por tratamiento repetido de la muestra con óxido de magnesio, el cual forma complejos insolubles con los taninos, por lo cual es fácil eliminarlos por filtración. Este ensayo, junto con el de la espuma, cuando ambos resultan positivos en una muestra vegetal (extracto, fracción o sustancia pura) permiten establecer que la muestra es o contiene saponinas. La sola prueba de espuma positiva no es concluyente para determinar la presencia de saponinas, Además hay sustancias que interfieren en esta prueba como son los taninos. Si la muestra contiene taninos, estos pueden eliminarse pues se absorben en MgO (oxido de magnesio). (12)
- **3.9.1.3- Distribución natural:** Las saponinas esteroides se encuentran principalmente en varias familias de la clase monocotiledónea, como son: Liliaceae, Dioscoreaceae y Amaryllidaceae (Agavaceae). En las dicotiledóneas, se las ha encontrado en las familias Solanaceae y Scrofulariaceae. En el reino animal, las estrellas de mar constituyen el único ejemplo de animales con saponinas esteroides. (12)
- 3.9.1.4- Importancia farmacéutica de saponinas esteroides: Aunque algunas saponinas esteroides han mostrado diversas actividades biológicas (antimicrobiana, citotóxica, antitumoral, ictiotóxica, molusquicida, insecticida, antihelmíntica, expectorante, diurética, cardiovascular, antiinflamatoria, anti-úlcera, espermicida, analgésica, antipirética, sedante, antifertilidad, antihepatotóxica, hemolítica, antimicótica, etc.) fundamentalmente se han constituido desde hace bastante tiempo, como precursores únicos de muchos medicamentos esteroides tales como hormonas sexuales, corticoides, contraceptivos orales y diuréticos.



La producción industrial de estas sustancias requiere una serie de procesos microbiológicos de fermentación y una serie de conversiones químicas relativamente complejas y en su gran mayoría patentadas por los grandes laboratorios farmacéuticos. (12).

#### 3.9.2- Porfirinas.

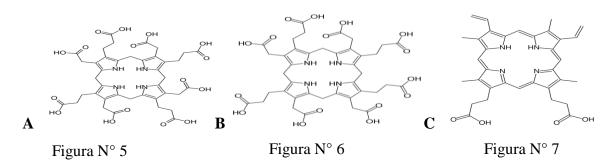
Las porfirinas son una de las unidades químicas vitales esenciales para la vida en la Tierra. Estos compuestos participan en una serie de procesos biológicos de gran relevancia para los seres vivos, como son la catálisis bioquímica, la transferencia electrónica, el transporte y activación de oxígeno y la fotosíntesis. (12)

Su alta ocurrencia en la naturaleza, aunado a la habilidad de sus derivados sintéticos y naturales para actuar como moléculas modelo para diferentes procesos biológicos, ha despertado el interés de los investigadores por estudiar y sintetizar estas moléculas. La estructura básica de las porfirinas, la porfina, consiste de cuatro anillos pirrólicos conectados entre sí por puentes metino (=CH-) en las posiciones alfa. (12)

Este sistema es el núcleo del que se derivan numerosos materiales de gran importancia biológica como la hemoglobina, la clorofila y la vitamina B12, El anillo de la porfirina posee un sitio vacante en su centro, idealmente apropiado para la incorporación de un metal. Esta característica de las porfirinas les permite formar complejos estables con diferentes iones metálicos. (12).

Las metaloporfirinas son complejos metálicos derivados de las porfirinas, Se caracterizan porque al menos un par de electrones de los nitrógenos centrales de la cavidad porfirínica se encuentran coordinados con el metal. Entre las metaloporfirinas que se encuentran en la naturaleza están, la hemina, que es la porfirina que contiene hierro, esencial para la sangre de los mamíferos, y la clorofila, que es la porfirina que contiene magnesio y que cataliza la fotosíntesis. (12).

#### 3.9.2.1- Clasificación de las porfirinas.





- A) Uroporfirinogeno I
- B) Uroporfirinogeno II
- C) Protoporfirina IX

#### 3.9.2.2- Importancia biológica de las porfirinas

Las porfirinas poseen un papel central en los sistemas vivientes debido a sus propiedades físicoquímico y biológico. Estos compuestos intervienen en el proceso de captura y utilización de energía que ocurre en la biosfera. (12).

En las plantas verdes, la clorofila es el compuesto responsable de la conversión de la energía luminosa del sol en energía química, que es almacenada en los enlaces de los carbohidratos, la característica estructural esencial de las clorofilas es un sistema de cuatro anillos, conocidos como porfinas, también aparece en los grupos hemo. (12).

Las porfinas presentes en los grupos hemos y las clorofilas presentan varios sustituyentes en los anillos pirrólicos y reciben el nombre general de porfirinas. La porfirina con los cuatros átomos de nitrógenos de los anillos de pirrol dirigido hacia el centro del macrociclo, compleja fuertemente iones metálicos <sup>(12)</sup>.

#### 3.9.2.3- Estructura y propiedades de las porfirinas y sus precursores

Las porfirinas son compuestos aromáticos, obedecen la regla de Hückel al tener 4n+2 (n=4) electrones  $\pi$  en un sistema conjugado plano y cíclico. La aromaticidad del anillo de la porfirina se ve reflejada en el gran efecto de corriente en el anillo en los espectros de 1H RMN ( $\delta$  NH  $\approx$   $-5,\delta$  meso-H  $\approx$ 10ppm), la estabilidad de sus iones moleculares en masas, las sustituciones electrofílicas sobre la periferia de su anillo, su planaridad y longitudes de sus enlaces intermedios en sus estructuras de Rayos X, así como su gran calor de combustión. (13).

Los intermediarios normales en la célula, no son las porfirinas, sino los porfirigenos, en los cuales los cuatros puentes metálicos están reducidos. De esta forma, mientras las porfirinas exhiben una estructura altamente conjugada de doble enlaces alternados y por ello presentan una notable coloración y emiten una intensa fluorescencia roja a la luz UV, los porfirinogenos son incoloros y no fluorescentes. Estas propiedades son de suma utilidad para su detección, identificación, y cuantificación en muestras biológicas. (13).



Las porfirinas son compuestos coloreados, que absorben en la región visible del espectro y son muy estables, ya que resisten el ataque de ácidos concentrados como H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Asimismo, se consideran compuestos anfotéricos, ya que poseen en su estructura nitrógenos (N) con comportamiento ácido y nitrógenos (N) que le confieren propiedades de bases. El tratamiento de las porfirinas con bases o ácidos conduce a la ionización de estos compuestos y la consecuente formación de formas aniónicas y catiónicas. (13).

Otra característica de las porfirinas es la facilidad que tienen para ser metaladas y formar complejos estables con diferentes iones metálicos. Un gran número de metales pueden ser insertados dentro de la cavidad de la porfirina para dar lugar a la formación de las metaloporfirinas correspondientes. (13).

#### 3.9.3- Hierro.

El hierro es un oligoelemento que se encuentra en cada célula del cuerpo humano, por lo general unido con una proteína. El hierro es un nutriente de suma importancia para los seres humanos, se debe a que forma parte de las células sanguíneas que transportan el oxígeno a todas las células del organismo. Nuestro organismo contiene unos 4.5 gramos de Hierro (75% en hemoglobina) es necesario para la utilización de las vitaminas del complejo B, colabora en el sistema inmunológico e interviene en la función y síntesis de neurotransmisores. Aproximadamente el 30% del hierro en nuestro cuerpo permanece almacenado para reemplazar fácilmente el hierro perdido. El hierro es imprescindible en la formación de la hemoglobina y la mioglobina que transportan el oxígeno en la sangre hacia los músculos, también forma parte de diversas proteínas y enzimas del cuerpo. (14)

#### 3.10- Espectrofotometría.

Es el conjunto de técnicas que utilizan luz para medir concentraciones químicas.

La luz se puede describir tanto en términos de partículas como de ondas. La longitud de onda,  $\lambda$  es la distancia existente entre cresta y cresta de una onda. La frecuencia v, es el número de oscilaciones completas de la onda cada segundo.

La relación entre la frecuencia y la longitud de onda es:

Ec. 1  $\lambda v = c \leftarrow \text{Velocidad de la luz.}$ 



Cuando una molécula absorbe un fotón, la energía de la molécula se incrementa. Se dice que la molécula pasa a un estado excitado si una molécula emite un fotón su energía disminuye, el estado de menor energía se llama estado basal o fundamental. (15)

Cuando una muestra absorbe luz la potencia radiante de la luz incidente disminuye después de fijar las longitudes de ondas al hacer pasar la fuente por un monocromador, esta última potencia radiante incide directamente sobre una muestra de espesor *b*. la cantidad de luz que atraviesa esta muestra puede ser igual o menor a la cantidad incidente a la cantidad de luz que atraviesa se le denomina transmitancia T. La transmitancia se relaciona con la absorbancia de forma inversamente proporcional. Por ejemplo cuando se absorbe el 90% de la luz el 10% de ella se transmite. (15)

La importancia de la absorbancia estriba en que es directamente proporcional a la concentración de especie absorbente de la muestra, pudiéndose representar mediante la siguiente ecuación:

$$Ec. 2$$
  $A = \varepsilon bc.$  (15)

Esta ecuación representa la denominada ley de Lambert-Beer. Esta ley de forma específica enuncia que "la absorbancia de una muestra es directamente proporcional a la concentración de la especie absorbente". La fracción de luz que pasa atraves de la muestra se relaciona de manera logarítmica y no lineal con la concentración de la muestra. (15)

### 3.10.1- Espectrofotómetro.

Es un equipo utilizado para medir la absorción de la luz. La luz de una fuente continua pasa atraves de un monocromador que selecciona una banda estrecha de longitudes de onda del haz incidente, esta luz monocromática atraviesa una muestra de espesor b y se mide la potencia radiante de la luz que sale. (16)

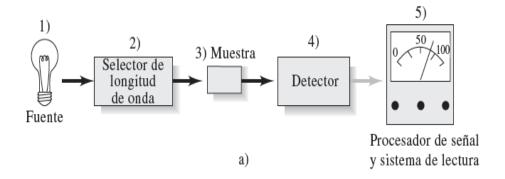
#### 3.10.1.1- Partes del instrumento.

- 1. **Fuente de radiación:** tiene intensidad constante en el rango de longitud de onda que cubre (usualmente es lámpara de tungsteno para luz visible, y deuterio para ultravioleta), <sup>(16)</sup>
- 2. Compartimiento para la muestra.
- 3. **Monocromador:** que separa la banda de longitud de onda deseada del resto del espectro y la dispersa al compartimiento de la muestra. (16)



- 4. Fotodetector, que mide cuantitativamente la radiación que pasa por la muestra. (16)
- 5. **Sistema de procesamiento:** procesa la lectura de la señal, que se visualice en una escala de medida. <sup>(16)</sup>

Figura N° 8. Estructura general del espectrofotómetro.



#### 3.11- Espectroscopía de Absorción atómica

Este método permite llevar a cabo un análisis cuali - cuantitativo entre 70 y 80 elementos. Los límites de detección para muchos de estos elementos son de menos de una parte por mil millones. La espectroscopia atómica puede estar basada en la medición de absorción, emisión o fluorescencia. La espectroscopia de absorción atómica (AA) es la más utilizada de estas tres. (16)

Como en todos los métodos espectroscópicos, en la espectroscopia de AA es necesario llevar a la muestra a un estado de vapor atómico. Este proceso conocido como atomización consiste en volatilizar la muestra y descomponerla en sus átomos y quizás algunos iones gaseosos. Para la atomización de las muestras que se van a analizar por espectroscopia de AA se utiliza principalmente la atomización a la flama y la atomización en horno. (17)

**3.11.1-** Espectroscopia de absorción atómica con atomización en flama: la radiación del elemento que interesa, cuya fuente de luz suele ser una lámpara de cátodo hueco, se dirige a través de la flama que contiene el gas atómico. La solución del analito se nebuliza por medio de un atomizador o nebulizador en finas gotitas que se lleva a la flama. El disolvente de la gota se evapora de inmediato y las partículas de sal se descomponen en átomos, iones y electrones. Mediante un monocromador se separa la línea espectral del elemento que interesa de cualquier



otra radiación que venga de la fuente o de la flama. La energía radiante de la fuente se transforma en corriente eléctrica mediante un tubo fotomultiplicador. (17)

**3.11.2-** Espectroscopia de atomización atómica con atomización electrotermica: la AA de atomización en horno o electrotermica, requiere del mismo equipo que se esquematiza, salvo que se utiliza un atomizador electrotérmicos en lugar de un quemador. Se toman pequeños volúmenes de muestras, normalmente unos microlitros y se depositan en el horno. Con un programa de calentamiento progresivo se evapora el disolvente de la muestra, la materia orgánica se reduce a ceniza o carbón y finalmente se forma el vapor atómico. La AA electrotermica es de uno a dos órdenes de magnitud más sensibles que la AA en flama. (17)

**3.11.3- Aplicaciones cuantitativas**. La AA electrotermica y en flama solo son técnicas cuantitativas dado que, para cada elemento, se debe utilizar una lámpara especifica de cátodo hueco. El análisis cuantitativo basado en la ley de Beer para el análisis de absorción molecular se aplica igualmente a la absorción atómica. Este método es bastante selectivo debido a que las líneas que emite la lámpara de cátodo hueco son muy finas (0.002- 0.005 nm). Además, con la atomización en horno se puede hacer mediciones en volúmenes muy pequeños como algunos microlitros de muestra. Los métodos de calibración también emplean el método de los estándares externos o de las adiciones del estándar. (17)

En condiciones normales la AA en flama puede dar desviaciones estándar mínimas, en cambio la AA electrotermica tiene menos precisión porque se utilizan volúmenes más pequeños de muestras y los errores relativos pueden ser de 10 % o menos. (17)

#### 3.11.4- Atomización de llama

En un atomizador de llama, una solución de la muestra se nebuliza mediante un flujo de oxidante gaseoso mezclado con un combustible también gaseoso y se lleva hacia una llama donde ocurre la atomización. (17)

#### 3.11.5- Tipos de llamas.

Cuando el aire es el oxidante, se logran temperaturas de 1700 °C a 2400 °C con varios combustibles. A estas temperaturas solo se atomizan las muestras que se descomponen con facilidad, así que se debe usar oxigeno u óxido nitroso como oxidante para muestras más refractarias. (17)



Estos oxidantes producen temperaturas de 2500 °C a 3100 °C con los combustibles comunes. Si el flujo de gas no excede la velocidad de combustión, la llama se propaga de regreso hacia el quemador y produce un retroceso de la llama. Cuando se incrementa el flujo, la llama sube hasta que alcanza un punto arriba del quemador donde la velocidad del flujo y la velocidad de combustión son iguales; es en esta región donde la llama es estable. A velocidades más altas, la llama sube y alcanza con el tiempo un punto en el que se desprende del quemador y lo apaga. (17)

Con estos hechos en mente, es fácil ver porque es tan importante controlar el flujo de la mezcla combustible-oxidante, el cual depende mucho de los tipos de combustible y oxidante que se utilicen. (17)

Tabla N° 1 Propiedades de la llama.

Combustible	Oxidante	Temperatura, °C	Velocidad de combustión máxima, cm s <sup>–1</sup>
Gas natural	Aire	1700-1900	39-43
Gas natural	Oxígeno	2700-2800	370-390
Hidrógeno	Aire	2000-2100	300-440
Hidrógeno	Oxígeno	2550-2700	900-1400
Acetileno	Aire	2100-2400	158-266
Acetileno	Oxígeno	3050-3150	1100-2480
Acetileno	Óxido nitroso	2600-2800	285

#### 3.11.6- Estructura de la llama.

Las regiones importantes de una llama incluyen la zona de combustión primaria, la región interzona y la zona de combustión secundaria. La apariencia y tamaño relativo de estas regiones varía en forma considerable con la relación entre combustible y oxidante, asi como con la naturaleza de cada uno de ellos. La zona de combustión primaria en una llama de hidrocarburo es reconocible por la luminiscencia azul que surge de la emisión de banda de C2, CH y otros radicales. El equilibrio térmico no se alcanza por lo general en esta región y, por tanto, rara vez se usa en la espectroscopia de llama. (17)

El área interzona, que es relativamente estrecha en las llamas de hidrocarburo estequiometricas, puede alcanzar varios centímetros de altura en fuentes de acetileno- oxigeno o de acetileno-óxido nitroso ricas en combustible. Debido a que en la región interzona predominan átomos libres, es la parte de la llama que más se usa para la espectroscopia.



En la zona de reaccion secundaria los productos de núcleo interno se convierten en óxidos moleculares estables que son dispersados después hacia los alrededores. (17)

Un perfil de llama proporciona información útil acerca de los procesos que suceden en diferentes partes de una llama; es una gráfica de contorno que revela regiones que tienen valores similares para una variable de interés. Algunas de las variables son: temperatura, composición química, absorbancia e intensidad radiante o fluorescencia. (17)

## 3.11.7- Perfiles de temperatura

La temperatura máxima se localiza aproximadamente a 2.5 cm por arriba de la zona de combustión primaria. Es importante en particular para los métodos de emisión enfocar la misma parte de la llama en la rendija de entrada para todas las calibraciones y mediciones analíticas. (17)

#### 3.11.8- Perfiles de absorción de llama

El magnesio manifiesta un máximo de absorbancia en casi la mitad de la llama como resultado de dos efectos que se oponen. El incremento inicial de absorbancia a medida que aumenta la distancia desde la base resulta de un mayor número de átomos de magnesio producidos por la exposición más prolongada al calor de la llama. No obstante, cuando se aproxima a la zona de combustión secundaria, comienza la oxidación apreciable del magnesio. Este proceso conduce al final a una disminución de la absorbancia porque las partículas de óxido que se forman no absorben en la longitud de onda de interés. Para alcanzar la máxima sensibilidad analítica, la llama debe ajustarse arriba y abajo respecto al haz hasta que se localice la región de absorbancia máxima. (17)

El comportamiento de la plata, que no se oxida con facilidad, es bastante diferente presentándose un incremento continuo en el número de átomos y, por tanto, en la absorbancia, desde la base hasta la periferia de la llama. En contraste, el cromo, que forma óxidos muy estables, muestra una disminución continua de absorbancia que comienza cerca de la punta del mechero.

Lo anterior hace pensar que la formación de óxido predomina desde el principio. Estas observaciones sugieren que para identificar cada uno de estos elementos debe usarse una parte de la llama.

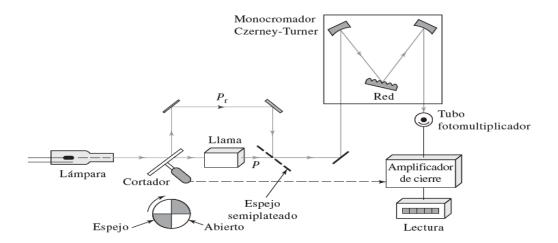


Los instrumentos más complejos para la espectroscopia de llama están equipados con monocromadores que toman muestras de la radiación desde una región relativamente pequeña de la llama y, por tanto, un paso crítico en el mejoramiento de la señal de salida es el ajuste de la oposición de la llama respecto a la rendija de entrada. (17)

- **3.11.9- Instrumentación:** Los instrumentos para espectrometría de absorción atómica son similares y constan de una fuente de radiación, un soporte de muestra, un selector de longitud de onda, un detector y un procesador de señal y lectura. El soporte de muestra en los instrumentos de absorción atómica es la celda del atomizador que contiene la muestra gaseosa atomizada. (17)
  - **1. Fuentes de radiación:** Los métodos de absorción son muy específicos debido a que las líneas de absorción atómicas son notablemente estrechas (0.002 a 0.005 nm) y porque las energías de transición electrónicas son únicas para cada elemento. (17)
  - **2.** Lámparas de cátodo hueco: La fuente más común para la medición de absorción atómica es la lámpara de catado hueco Este tipo de lámpara consta de un ánodo de tungsteno y un cátodo cilíndrico sellado en un tubo de vidrio lleno con gas neón a una presión de 1 a 5 torr. El cátodo está construido del metal cuyo espectro se desea obtener, o sirve para soportar una capa de ese metal. (17)
  - 3. Lámparas de descarga sin electrodos: Las lámparas de descarga sin electrodos, son fuentes útiles de espectros de líneas atómicas y proporcionan intensidades radiantes de por lo general uno o dos órdenes de magnitud mayores que las lámparas de cátodo hueco. Una lámpara típica se construye de un tubo de cuarzo sellado que contiene unos cuantos torr de gas inerte como el argón y una pequeña cantidad del metal (o su sal) cuyo espectro es de interés. La lámpara no contiene electrodo, pero en cambio es energizada por un campo intenso de radiación de radiofrecuencia o microondas. (17)
  - **4. Modulación de la fuente:** En el instrumento de absorción atómica común es necesario eliminar interferencias causadas por la emisión de radiación mediante la llama. La mayor parte de la radiación emitida es, por supuesto, eliminada por el monocromador. (17)



Figura N°9 Partes de un espectrómetro de llama.



#### 3.11.10- Características del desempeño de atomizadores de llama.

Hasta la fecha, la atomización de llama es el más reproducible de todos los métodos de introducción de muestra liquida que han sido perfeccionados para la espectrometría de absorción y fluorescencia. Sin embargo, la eficiencia de toma de muestras de otros métodos de atomización y, por tanto, su sensibilidad son notablemente mejores. Hay dos razones principales de la menor eficiencia de muestreo de la llama. Primero, una gran porción de la muestra fluye hacia el drenaje. Segundo, el tiempo de residencia de cada uno de los átomos en la trayectoria óptica es breve (~10\_4 s). (17)

#### 3.11.11- Atomizadores electrotérmicos.

En este dispositivo la atomización ocurre en un tubo de grafito cilíndrico que está abierto en ambos extremos y que tiene un orificio central para la introducción de la muestra por medio de una micropipeta. El tubo es de unos 5 cm de largo y tiene un diámetro interno de poco menos de 1 cm. El tubo de grafito intercambiable se ajusta cómodamente en un par de contactos eléctricos de forma cilíndrica, hechos también de grafito, que se ubican en los dos extremos del tubo y se mantienen en una carcasa de metal enfriada por agua. Se suministran dos corrientes de gas inerte. La corriente externa evita que entre aire del exterior incinere el tubo. La corriente interna fluye hacia los dos extremos del tubo y sale del puerto de muestra central. Esta corriente excluye no solo el aire, sino que también sirve para arrastrar vapores generados en la matriz de muestra durante las dos primeras etapas de calentamiento. (17)



#### 3.11.12.- Señal de salida.

A una longitud de onda a la que ocurre absorbancia o fluorescencia, la salida del transductor se eleva a un máximo después de algunos segundos de ignición seguida de un rápido descenso a cero cuando los productos de la atomización escapan hacia los alrededores. (17)

El cambio es lo bastante rápido (con frecuencia 1 s) como para requerir un sistema de adquisición de datos moderadamente rápido. Por lo general las determinaciones cuantitativas se basan en la altura del pico, aunque también se usa el área de este. (17)

#### 3.11.13- Características de desempeño de los atomizadores electrotérmicos.

Los atomizadores electrotérmicos ofrecen la ventaja de ser inusualmente sensibles para volúmenes pequeños de muestra. Por lo común, se emplean volúmenes de muestra entre 0.5 y 10 µL en estas circunstancias, los límites de detección absolutos están en el intervalo de 10 - 13 g de analito. La precisión relativa de los métodos electrotérmicos está por lo general en el intervalo de 5 a 10% en comparación con 1% o más que se puede esperar de la atomización de llama o plasma. Además, debido a los ciclos de calentamiento-enfriamiento, los métodos de horno son lentos, por lo común requieren varios minutos por elemento. Una desventaja final es que el intervalo analítico es relativamente estrecho, por lo regular de menos de dos órdenes de magnitud. Como resultado, la atomización electrotermia es el método de elección cuando la atomización de llama o plasma proveen límites de detección inadecuados. (17)



# 4- MATERIALES Y MÉTODO.

**4.1- Tipo de estudio:** Experimental.

**4.2-** Universo: Frutos de especies de Cassia grandis L que existen en todo el territorio nacional en capacidad productiva.

**4.3- Muestra:** Frutos de *Cassia grandis* provenientes de la región occidental del pacifico (villa nueva municipio de Chinandega), noroeste (Jalapa municipio de nueva Segovia) y la parte central oriental (Catarina municipio de Masaya).

**4.4- Unidad de análisis:** pulpa de *Cassia grandis L.* 

- 1. Criterios de inclusión: especies de *Cassia grandis L* desarrolladas que han florecido y fructificado al menos más de una vez
- 2. Criterios de exclusión: especies de *Cassia grandis L* desarrolladas que tengan su primera floración y fructificación
- **4.5- Fuente de obtención de la información:** los datos serán obtenidos tras el tratamiento y procesamiento del material vegetal directamente del equipo de análisis
- **4.6- Procesamiento de la información:** para le elaboración del documento y el procesamiento de los resultados se utilizaron los programas, Microsoft office Word y Excel.
- **4.7- Área de trabajo:** El experimento se desarrollara en los espacios de los laboratorios B11 y B12 ubicados en el segundo piso del edificio de la facultad de ciencias químicas y que corresponden al departamento de farmacia industrial.

#### 4.8- Variables de estudio:

- > Procedencia del material.
- > Relación droga-solvente
- Solidos totales.
- > Saponinas.
- > Hierro.
- Porfirinas.



# 4.9- Tabla $N^{\circ}$ 2 Operacionalizacion de variables:

Variable	Definición	indicador	Escala.
Procedencia	Lugar o zona geográfica donde nació y de donde se recolecto el material vegetal.	departamento	
Saponinas	Glucósidos amorfos coloidales muy hidrosolubles que producen espuma cuando se agita.	Concentración.	g/L.
Hierro.	Hierro. Micromineral u oligoelemento que interviene en el metabolismo humano.	Concentración.	mg/L.
Porfirinas.	Compuestos cíclicos formados por cuatro anillos pirrólicos, unidos por puentes metenilo.	Concentración.	mg/L.
Relación droga solvente.	Proporción especifica entre la cantidad del material vegetal y un medio solvente.	p/v y %	% gramos.
Solidos totales.	Es la materia seca que permanece en el extracto posterior a la remoción del agua, mediante el quemado del extracto.	Humedad	%

P: peso V: volumen %: porcentaje



## 5- Procedimiento de trabajo.

#### 5.1- Materiales.

- 1. Vainas de carao.
- 2. Ambientador, desinfectante.
- 3. Alcohol al 96%
- 4. Martillo.
- 5. Beaker (250 ml).
- 6. Pipetas de 10 ml.
- 7. Probeta de 100 ml.
- 8. Agitador de varilla.
- 9. Espátula.
- 10. Balanza analítica.
- 11. Cocina.
- 12. Panas para baño maría.
- 13. Capsulas de porcelana.
- 14. Desecador
- **5.2- Recolección del material vegetal (ver anexo N°1):** Para la recolección del material vegetal, una vez definida las zonas de recolección se procedió a indagar la ubicación de especies de Cassia grandis que cumplan los criterios de inclusión en los departamentos de Chinandega, Masaya y Jalapa.
- **5.3- Extracción de la pulpa del carao (ver anexo N°2):** La extracción de la pulpa se realizó de forma manual, haciendo uso de un martillo para triturar el pericarpio de las vainas del carao, una vez extraída la pulpa de cada muestra se puso en contacto con 250 ml de agua con el objetivo de facilitar la separación de esta con su semilla, este tratamiento se realiza durante 24 horas.
- **5.4- Maceración del material vegetal en alcohol (ver anexo N°3):** Tras finalizar la operación anterior se procede a preparar extractos en dos fracciones, 1:5 y 1:10 es decir un equivalente a tener 1 gramo de la especie vegetal en 5 ml de solvente y respectivamente un gramo de la especie vegetal en 10 ml de solvente.



1. El solvente a utilizar para preparar los extractos será alcohol preparado en tres diluciones 35%, 50% y 70% partiendo de alcohol al 98%, cada extracto se preparara para 100 ml, los cálculos para determinar la cantidad de alcohol y agua a utilizar se determinaran haciendo uso de la formula siguiente:

Ec. 3 
$$V (R OH) = V_2 X C_2$$
.

- **2.** Luego de preparar las diluciones se pesan 20g de la pulpa de carao para la fracción 1:5 que corresponde con cada uno de los lugares de procedencia y se ponen en contacto con los 100 ml del alcohol diluido, para la fracción 1:10 se pesaran 10g.
- **3.** Tras poner en contacto la pulpa de carao con el solvente se procedió a observar las coloraciones de todos los extractos y a medir el pH de los extractos, haciendo uso de un pHchimetro, previamente calibrado con estándares de buffer pH 4, pH 7 y pH 10
- **4.** Haciendo uso de un beaker y una pana para baño maría realizamos una maceración acelerada a 150°C durante 20 minutos con agitación constante, una vez finalizada la maceración filtrar el macerado y medir el volumen recuperado.

## 5.5- Determinación de sólidos totales (ver anexo N°5).

- 1. Se seleccionó el número de cápsulas de porcelana necesarias para colocar 1 ml de cada extracto, rotulamos cada cápsula con el nombre del extracto y la procedencia, se pesó la capsula vacía y anotamos el peso.
- 2. Haciendo uso de un a pipeta serológica se adicionó 1 ml de cada extracto a la capsula de porcelana correspondiente y luego se pesó cada cápsula con el ml anotamos el peso junto con el de la cápsula vacía.
- **3.** Se colocó la cápsula de porcelana que contiene el ml de extracto en una cocina hasta quemar por completo el extracto contenido.
- **4.** Apoyándose de una pinza colocamos cuidadosamente las cápsulas de porcelana en un desecador durante una media hora y posteriormente las retiramos del desecador y las pesamos rápidamente luego comparamos los pesos y calculamos los sólidos totales para cada extracto haciendo uso de la siguiente fórmula.

Ec. 4 
$$%S = \frac{Pcap.s - Pcap.v.}{Pcap.ml - Pcap.v.}$$
 X 100



#### Donde

- **1.** Pcap.s = Peso de la capsula con el ml quemado.
- 2. Pcap v. = Peso de la capsula vacía.
- **3.** Pcap.ml = Peso de la capsula con el ml de extracto entes de calentar.

En base a los resultados seleccionamos la mejor relación droga solvente para cada zona con la cual realizamos el análisis en el equipo.

# 5.6- Cuantificación de hierro. (1,17)

- 1. Para este ensayo se utilizó un equipo: perkin Elmer con detector de llama y grafito, acetileno para la combustión con una pº externa de 60 PSI y una pº interna de 20 PSI, longitud de onda de lectura de calibración del equipo 324.8 nm, longitud de onda para la curva de calibración 248.9 nm
- **2.** Calibración del equipo se utilizara solución madre de cobre hasta la obtención de una solución final obteniendo concentraciones de 1, 2, 3, 4, 5, 6 ppm respectivamente para la elaboración de la curva de calibración.
- **3.** Preparación de la muestra, la especie previamente calcinada son redisueltas en solución de ácido sulfúrico concentrado posteriormente se preparan diluciones de la muestra hasta la quinta dilución para su posterior lectura.

#### 5.6.1- Curva de calibración de estándares.

- 1. Estándares de hierro preparados a partir de solución madre de 1000mg/L
- 2. Estándares de 5 mg/L: tomar 0,5 ml del estándar concentrado de 1000 mg/L
- 3. Adicionar 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y aforar de 100 ml con agua desionizada.
- **4.** Estándar de 2 mg/L: tomar 0,2 ml del estándar concentrado de 1000 mg/L y adicionar 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y aforar a 100 ml con agua desionizada.
- **5.** Estándar de 1 mg/L: tomar 0,1 ml del estándar concentrado de 1000mg/L y adicionar 5 ml de ácido sulfúrico concentrado y aforar a 100 ml con agua desionizada.



## 5.6.2- Cuantificación de las muestras para el ensayo

- 1. Inicialmente para la cuantificación de la muestras se procede a tomar 5 gramos de ceniza de *Cassia grandis* previamente calcinada y disuelta en ácido sulfúrico concentrado 100 ml, posteriormente se realizan 2 diluciones posteriormente de la muestra 1/100 la cual finalmente será valorada en la lectura del espectrofotómetro.
- 2. Ingresar al equipo de absorción atómica en método hierro que contiene la curva de calibración obtenida de concentración en μg/ml, calcular el coeficiente de correlación lineal e intercepto e interpolar la muestra para cuantificar el resultado de la absorción vs concentración. Valor : μg/ml

#### 5.6.3- Cálculo e información de resultados.

#### **Ec. 5** Hierro mg/L = CxV/a

- 1. Dónde: C = concentración en μg/ml obtenidos por la interpolación en la curva de calibración de la muestra
- 2. V = volumen de la muestra final
- **3.** a= masa de la muestra en gramos
- **4.** límite de detección: 0,11 μg/ml
- 5. límite de cuantificación: 0,38 μg/ml
- **6.** Informar mg/L de hierro.

# 5.7- Cuantificación de saponinas. (18)

#### 5.7.1- Preparación de la muestra.

- 1. Tomar 0.5 ml correctamente medidos del extracto de *Cassia grandis* y transferirlo a un beaker.
- 2. Adicionar 30 ml de la solución hidroalcohólica al 50 %.
- 3. De la solución formada transferir 6 ml a un tubo de ensayo
- 4. Anadir 3 gotas del reactivo anhídrido acético/ ácido sulfúrico al 16%
- 5. Leer en el espectrofotómetro a una longitud de ondas de 485 nm



# 5.7.2- Preparación del estándar de Digoxina para la cuantificación de saponinas.

- 1. Pesar 0.1 gramo del estándar de Digoxina y Transferir a un balón de 50 ml luego disolver con una solución hidroalcohólica al 50% y aforar.
- 2. De la solución anterior tomar 8 ml transferir a un balón de 25 ml aforar y luego preparar las diluciones según la tabla. Siguiente.

Tabla N°3 preparación de la curva de calibración.

Volumen del std (ml)	Vol. del reactivo (ml)	Concentración final µg/ml
1	4.5	116.36
1.5	4	174.54
2	3.5	232.72

Nota: usar como blanco 10 ml de la solución hidroalcohólica al 50% y 1 ml del reactivo. El reactivo utilizado está compuesto por anhídrido acético / ácido sulfúrico al 16%

# 5.8- Cuantificación de porfirinas. (20)

## 5.8.1- Preparación de la muestra.

- 1. Medir 1ml del extracto puro y diluirlo hasta 10 ml con una solución de HCL 1M
- 2. Realizar filtración con filtro de membrana de 0.4 µm
- 3. Colocar en un tubo de ensayo la solución y tapar.
- 4. Proceder a realizar la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 405 nm.

#### 5.8.2- Preparación del estándar de porfirinas.

- 1. Pesar exactamente 0.05 g de hematoporfirina (patrón).
- 2. Trasferir a un balón de 25 ml y diluir con solución de HCl 1M hasta el afore.
- 3. De esta solución transferir 1, 2 ,3 y 4 ml a balones de 50 ml y aforar cada uno por separado para obtener concentraciones de 40, 80, 120, y 160 µg /ml respectivamente.
- 4. Realizar lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 405 nm, utilizando celda de 1 cm.

Nota: Utilizar como blanco la solución de HCl 1M



## 6- RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

## **6.1-** Tabla N°4 Descripción de los extractos

Muestra.	Fracción y		Color.	pН	mL	mL final.	Volumen
	porcentaje.				inicial		recuperado
		35%	Café claro.	4.78	100	38	38%
(A)	1/5	50%	Café oscuro.	5.05	100	36	36%
		70%	Café oscuro.	5.01	100	34	34%
Chinandega.		35%	Café claro.	5.48	100	46	46%
	1/10	50%	Café oscuro	5.76	100	35	35%
		70%	Café oscuro.	5.65	100	31	31%
		35%	Café claro.	5.31	100	45	45%
<b>(B)</b>	1/5	50%	Café oscuro.	5.58	100	28	28%
3.4		70%	Café oscuro.	5.87	100	14	14%
Masaya.		35%	Café claro.	5.58	100	46	46%
	1/10	50%	Café oscuro.	5.54	100	38	38%
		70%	Café oscuro.	5.89	100	20	20%
		35%	Café claro.	4.25	100	37	37%
<b>(C)</b>	1/5	50%	Café oscuro.	4.67	100	34	34%
T 1		70%	Café oscuro.	4.97	100	20	20%
Jalapa.		35%	Café claro.	5.43	100	26	26%
	1/10	50%	Café oscuro.	5.08	100	40	40%
		70%	Café oscuro.	5.01	100	28	28%

La tabla Nº 1 describe de forma general el comportamiento de los extractos de *Cassia grandis* tras su preparación. Los cuales se prepararon para su elección a las diferentes relaciones droga solventes y concentración de solventes tal como se muestra en la tabla, mediante lo cual se aprecia la influencia de lo anteriormente mencionado, inicialmente se puede ver una diferencia en el aspecto sensorial de los extractos (color) esta variación, se justifica en el porcentaje de alcohol que se utiliza en la mezcla del solvente a medida que aumenta la concentración de este, se modifica la solubilidad de los metabolitos, el pH de los extractos es ligeramente ácido, esta acidez se debe a varios factores como la acidez misma de la fruta y la proporción del material vegetal en el solvente, por ende al disminuir la cantidad de la pulpa de carao, en la misma cantidad de solvente se observa un ligero aumento del pH, el porcentaje de rendimiento del volumen total tras la maceración acelerada se justifica por el punto de ebullición que presentan los componentes de la mezcla de solvente el agua ebulle a 100 °C y el alcohol a los 78 °C por tanto es razonable obtener menor volumen en las proporciones donde la mezcla del solvente tiene más concentración de alcohol, ya que este se evaporara con mayor facilidad.



**6.2** - Tabla N°5 Mejor relación droga solvente y solidos totales (ver anexo N°6).

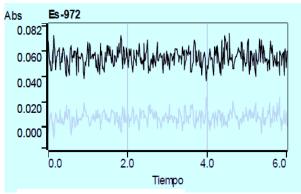
MUESTRA.	Frace	ción y entaje.	Constante dieléctrica del solvente.	Peso de capsula vacía. Gramos	Peso de capsula con 1ml de extracto	Diferenci a entre cap. Vacía y con 1 ml.	Peso de capsula con 1 ml seco.	Diferencia con cap. <u>vacia</u> .	% Recuperad o.
		35%	59.01	39.3602	40.2080	0.8478	39.4248	0.0646	7.61
(A)	1/5	50%	50.71	45.0393	45.9865	0.9472	45.1790	0.1397	14.74
Chinandega.		70%	39.70	45.7369	46.6070	0.8701	45.8627	0.1258	14.45
Сппапиеда.		35%	59.01	42.3188	43.2342	0.9154	42.4199	0.1011	11.04
	1/10	50%	50.71	42.3993	43.2832	0.8839	42.4566	0.0573	6.48
		70%	39.70	42.8531	43.7085	0.8554	42.9723	0.1192	13.93
	1/5	35%	59.01	41.1630	42.0650	0.902	41.2297	0.0667	7.39
(B)		50%	50.71	45.0337	45.8620	0.8283	45.1174	0.0787	9.50
Masaya.		70%	39.70	43.7240	44.6802	0.9562	43.8607	0.1367	14.29
		35%	59.01	47.6476	48.5130	0.8654	47.7123	0.0647	7.48
	1/10	50%	50.71	40.8900	41.6827	0.7927	40.9505	0.0605	7.63
		70%	39.70	43.2438	44.6695	1.4512	43.3159	0.0721	4.97
		35%	59.01	82.7506	83.7155	0.9649	82.8290	0.0784	8.13
(C)	1/5	50%	50.71	81.3672	82.3087	0.9415	81.4503	0.0831	8.83
Jalapa.		70%	39.70	78.1928	79.1000	0.9072	78.2909	0.0981	10.81
Jumpur		35%	59.01	52.6702	53.5673	0.8971	52.7234	0.0532	5.93
	1/10	50%	50.71	42.5354	43.4460	0.9106	42.5989	0.0615	6.75
		70%	39.70	44.3603	45.3333	0.973	44.4275	0.0672	6.91

La tabla anterior muestra la mejor relación droga solvente y concentración de solvente, para cada zona, mediante el porcentaje de sólidos totales obtenidos, la mayor cantidad de sólidos se obtuvo en las fracciones 1:5 en las tres zonas de estudio, siendo específicamente el solvente preparado al 70% de alcohol quien presentó la polaridad adecuada para efectuar la extracción, considerando que este solvente es ligeramente polar, es razonable entonces pensar que aquí se debe obtener la mayor cantidad de metabolitos extraídos ya que los presentes en la fruta del carao son bastante solubles en solventes polares, la muestra que presento la mayor cantidad de solidos totales fue Chinandega con el 14.75%, seguido de Masaya con 14.29% y Jalapa 10.81% por tanto para la realización del resto de análisis se efectuaran en muestras de cada región preparadas en fracción 1:5 en solvente al 70 %.



# 6.3- Resultado del análisis de hierro en las muestras de Cassia grandis L.

#### 6.3.1- Espectro de absorcion de las muestras de Cassia grandis L.



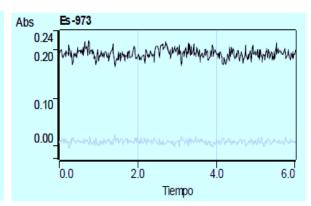
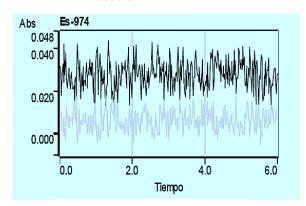


Figura N° 10 Masaya Muestra 1

Figura  $N^{\circ}$  11 Jalapa.



Muestra 2

Figura N° 12 Chinandega.

Muestra 3

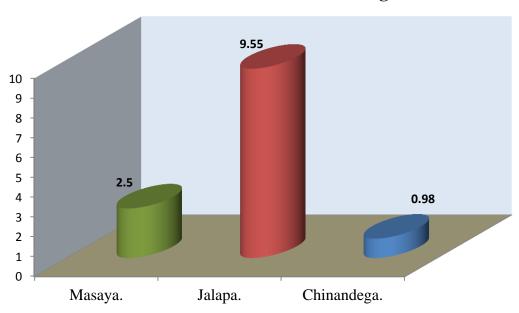
Los espectros Es-972 correspondiente a Masaya, Es-973 Jalapa, y Es-974 Chinandega, muestran oxidación (línea negra) de la muestra , y reducción (línea gris) con acetileno y los correspondientes valores de absorbancias obtenidos a  $\lambda$  248 nm nos permiten apreciar que de las tres muestras de análisis (Jalapa, Chinandega y Masaya.), Jalapa obtuvo el valor más alto de absorcion, a un tiempo de intervalo máximo de 6 minutos, esto indica claramente que la muestra de Cassia grandis proveniente de Jalapa contiene la mayor cantidad de hierro, así como se muestra en la tabla  $N^{\circ}6$ .



### 6.3.2- Tabla N° 6 resultados de la cuantificación de hierro.

Muestra.	Longitud de onda nm λ	Tiempo de ensayo (minutos)	Absorbancia.	Concentración Fe mg/L.
Masaya.			0.0545	2.5
Jalapa.	248	6	0.1885	9.55
Chinandega.			0.0281	0.98

Grafico N° 1 concentracion Fe mg/L

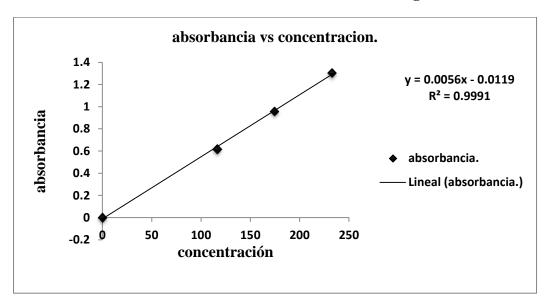


La tabla y el grafico permiten apreciar que en el extracto fluido de Cassia grandis, en base a los valores de absorbancias obtenidas, la muestra de Masaya presento una concentración de 2.5 mg/L de hierro, Jalapa 9.55 mg/L, y Chinandega 0.98 mg/L, esto indica claramente que las muestras provenientes de Jalapa contienen la mayor cantidad de hierro, los estudios territoriales de suelo en Nicaragua realizados por el MAGFOR e INETER, reportan una mayor cantidad de hierro en los suelos de Masaya y chinandega, aunque ese hierro no está del todo disponible para las plantas ya que el contenido de cal y calcio que los suelos poseen también son altos y esto tiende a convertir el Fe<sup>+2</sup> (soluble) en sales oxidadas de Fe<sup>+3</sup> (insolubles) que requieren de mucha humedad en el suelo para ser absorbidas, ahora si tenemos en cuenta, las precipitaciones anuales de agua (con presencia de canículas) en la región de Chinandega y Masaya oscila entre 1000-1400 mm cantidad inferior a los 1600 mm que se precipitan en jalapa donde no se presenta del todo periodos caniculares, Por otra parte si consideramos el tiempo de invierno en jalapa que son aproximadamente 8 meses nos damos cuenta que aunque la disposición del mineral Fe en su suelo sea menor que en el de Chinandega y Masaya, la humedad, el tipo de suelo (que no es de origen volcánico) le permiten absorber y acumular mejor el metal a la planta. Aunque debemos señalar que la cantidad de hierro presente en el extracto no es suficiente para tratar la anemia ferropénica, que es el uso que tradicionalmente se le ha venido dando a esta planta.



# 6.4- Resultados de la cuantificación de saponinas.

## 6.4.1- Grafico N° 2 curva de calibración del estándar de Digoxina.



Fuente: espectrofotómetro de la facultad de ciencias químicas.

6.4.2- Tabla N° 7 tabla de absorbancias del estándar.

Standard	Concentración µ/ml	Absorbancia 485 nm
Digoxina	116.36	0.62090
Digoxina	174.54	0.95997
Digoxina.	232.72	1.30520

La Digoxina fue utilizada como el estándar de referencia para la cuantificación de las saponinas presentes en el extracto de *Cassia grandis L*, esto se hizo considerando la similitud estructural de la Digoxina con las saponinas por el núcleo esteroidal, la curva de calibración muestra la linealidad del método de análisis con la cual se cumple la ley de Beer, esto se comprueba con el R<sup>2</sup> igual 0.9997, lo cual explica que existe una fuerte correlación entre la cantidad de estándar añadida con la absorbancia de la misma. El espectro de absorbancia del estándar y la muestra de saponinas se muestran en el anexo N°7.



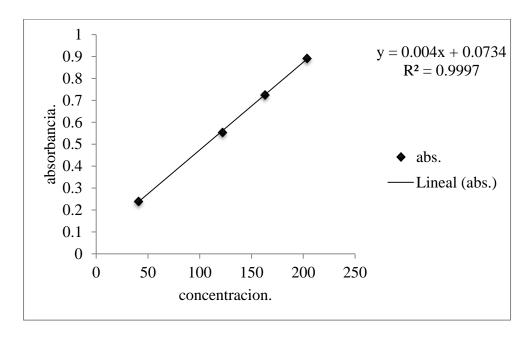
### 6.4.3- Tabla N° 8 Resultados de la cuantificación de las muestras de saponinas.

Procedencia	Saponinas µg/ml de la dilución de la muestra.	Saponinas g/L del extracto de cassia grandis L.	Absorbancia 485.
Masaya	90.240	5.41.	0.48425
Jalapa	73.144	4.40	0.39251
Chinandega	135.04	8.10	0.72167

La tabla anterior muestra claramente que el extracto fluido de *Cassia grandis L* provenientes de chinandega, contiene la mayor cantidad de saponinas totales (8.10 g/L), esto se debe básicamente a la facilidad de adquisición de nutrientes que tienen estas plantas en su suelo, además el ambiente cálido y soleado que le permite a la planta captar la mayor cantidad de luz posible y elaborar asi mediante la fotosíntesis gran cantidad de azucares, que serán luego mediante procesos enzimáticos transformados en acetilCoA (precursor de síntesis de las saponinas.) y después en ácido mevalonico que originará otro compuesto llamado escualeno y de este dependerá una serie de reacciones que finalmente formaran las saponinas, es claro entonces que a medida que se propicie mayor cantidad de metabolito precursor de acetil coenzima A, mayor será la cantidad de saponinas que se elabore y que se acumule en la planta.



## 6.5- Resultados de la cuantificación de porfirinas.



El análisis de las porfirinas en las muestras de *Casia grandis* se efectuó usando como patrón hematoporfirina IX, al preparar la curva de calibración del estándar se muestra la relación proporcional que existe entre la concentración y la absorbancia del estándar y con ello el cumplimiento de la ley de Lambert – Beer ajustándose la recta con un R<sup>2</sup>= 0.9997.

Tras efectuar el análisis a los extractos no fue posible la identificación de porfirina en ninguna de las tres muestras, la razón por la cual este metabolito no fue posible de identificar se puede justificar mediante el catabolismo de la clorofila que es la principal porfirina de la fruta de *cassia grandis*. La ruta de degradación de las moléculas de clorofila inicia con la eliminación de la cola de fitol a cargo de la enzima clorofilasa. Luego, ocurre la eliminación del Magnesio debido a la participación de la enzima magnesio dequelatasa, en la siguiente etapa la estructura de la porfirina se abre mediante una oxigenasa para formar una cadena tetrapirrólica abierta. Por último, el tetrapirrol se modifica dando lugar a productos hidrosolubles incoloros que serán almacenados en la vacuola de forma permanente, por tal razón los metabolitos resultantes de la degradación de la porfirina no pueden identificarse mediante reacciones colorimétricas. (19)



#### 7- CONCLUSIONES.

## Los resultados obtenidos en este trabajo nos permiten afirmar que:

La mejor relación droga solvente elegida por recuento de solidos totales, para efectuar la extracción de metabolitos en la fruta de *Cassia grandis L* es un gramo de pulpa por 5 ml de solvente hidroalcohólico preparado al 70 %. La concentración de los metabolitos (exceptuando las porfirinas) en estudios varía con el clima, el tipo de suelo, la radiación solar, la humedad y el pH del suelo, propio de cada región del país donde sean recolectadas las muestras de *Cassia grandis L*.

El fruto de Cassia grandis L. en su estado de recolección no presento porfirinas ya que estas fueron degradadas a moléculas incoloras mediante el proceso de maduración.

La muestra de *Cassia grandis L* proveniente de Jalapa, es la que posee la mayor cantidad de hierro (9.55 mg/l) y la menor cantidad de saponinas totales (4.40 g/l) en su extracto, resultados totalmente opuestos a los de las muestras chinandeganas 0.98 mg/l de hierro y 8.10 g/l de saponinas totales, esta diferencia de resultados se debe meramente a la diferencia de clima de las dos zonas. La cantidad de hierro encontrada en los extracto de *Cassia grandis L* no es suficiente para considerarla por si sola una alternativa de tratamiento de la anemia ferropénica, en cambio la cantidad de saponinas encontradas en los extractos es suficiente como para considerarla una fuente de extracción y aislamiento de saponinas.



#### 8- RECOMENDACIONES.

### 8.1- A la facultad de ciencias químicas

Garantizar a los estudiantes las condiciones ambientales adecuadas para desarrollar con efectividad cada una de las actividades en el laboratorio.

Realizar el mantenimiento periódico de los equipos utilizados para el análisis farmacéutico ya que algunos presentaron fallos o desperfectos al momento de utilizarlos.

Equipar un laboratorio exclusivo para el desarrollo de las pruebas en el área de farmacognosia por los malos olores que se generan al procesar material vegetal.

### 8.2- A los estudiantes de farmacia

Realizar estudios de validación para el análisis de metabolitos presentes en la materia prima de *Cassia grandis L.* 

Realizar estudios para el aislamiento de las saponinas presentes en la fruta de *Cassia grandis*, como precursores de variados fármacos.

Caracterizar el tipo de saponinas presentes en *Cassia grandis L* por su núcleo.

Seguir realizando este tipo de estudios y de este modo profundizar un poco más en la materia del análisis farmacognósico.



## 9- Referencias bibliográficas.

- 1. Gonzalez G Keyrin Yessenia. Valoración cuantitativa de hierro en tres especies vegetales moringa oleífera, smilax domingenesis y smilax regueli. 1ª ed. León 2011.
- 2. Rocha B Francis Vanessa. Cuantificación del contenido de hierro en jarabes fitoterápicos y valoración de su estabilidad. 1ª ed. León, 2011.
- 3. Díaz A Edwin, Narváez B Jairo (2012).evaluación de *moringa oleífera*, *cassia grandis L*, *smilax Dominguenesis y smilax reguelli*, como estimulante hematopoyético en cepas wistar. 1ª ed. UNAN León.
- 4. García Danny E., Medina María G (2006). Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros vol. 24.
- 5. Nota Técnica No. 56 cassia grandis cl. recuperado el 22/12/2013, desde http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A0008S/A0008S36.PDF
- 6. Tillan C Juana, Rodríguez C Jorge, Gómez M Juan Miguel, Pardo R Zenia y Agüero F Sara (2004). Actividad antianémica de la Cassia grandis L. Recuperado de: http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol38\_3\_04/far09304.htm.
- 7. Riveros A.S., L.E Pocasangre y F.E Rosales, editores. (2002). Inducción de resistencia y uso de tecnologías limpias para el manejo de plagas en plantas. Memorias del taller internacional realizado en CATIE, Turrialba, Costa rica 27-30 de agosto de 2002. Impresión y diseño, san José, Costa Rica pag 66.
- 8. Castillo Agustín, Eresue Michelle, Rodríguez Leonel y Rugama José A. (2003) manejo integrado de la fertilidad de los suelos en Nicaragua (INTA). Editorial inpasa.
- 9. NICARAGUA. Ministerio Agropecuario y Forestal Compendio de mapas : Uso Potencial de la Tierra / MAGFOR. --1a ed.-- Managua : MAGFOR, 2010 148.
- 10. Remington (2000): The sciencie and practice of pharmacy 20<sup>th</sup> ed. Vol. I editorial médica panamericana, pag 477.
- 11. Alejandro Martinez M. (2001). Saponinas esteroides pag 6-7 revisado el 06/09/2013 recuperado desde: http://farmacia.udea.edu.co/~ff/saponinas2001.pdf.
- 12. Alejandro Martínez M (2001), saponinas esteroides, publicado en Medellín, revisado 19/11/13 extraído de http://farmacia.udea.edu.co/~ff/saponinas2001.pdf falta dirección
- 13. María Belén Piñeiro Pauwels (2010), Estudios bioquímicos y genéticos en pacientes diagnosticados con porfiria congénita eritropoyética revisado 22/11/13, extraído de http://www.ub.edu.ar/investigaciones/tesinas/418\_Pineiro.pdf.



- 14. Harris Daniel C 1991. Análisis químico cuantitativo 3ª ed. Editorial iberoamericana U.S.A
- 15. Sandoval Judith 2011, calibración de instrumentos para analisis instrumental, 1ª ed. recuperado el 22/11/13, desde.
  - http://mapalu1994.blogspot.com/2011/12/espectrofotometro.html
- 16. Skoog West, Holler Crouch (2001). Química analítica, 7ª edición, Edit. McGraw –Hill pag. 646 648.
- 17. Skoog Douglas A, Holler F James, Crouch Stanley R (2008). Principios de análisis instrumental. 6ª ed. Editorial cengage learning. Pag 230 246.
- 18. Teleguario, C. (2008), caracterización y cuantificación de flavonoides, sapogeninas esteroidales en extractos de tres plantas mesoamericanas lippia graveolens (orégano), passiflora edulis (maracuyá) y smilax domingenesis (zarzaparrilla). Recuperado de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\_2682.pdf revisado 20/11/13
- 19. Badui D, salvador (2006).química de los alimentos, 4 <sup>Ed</sup>, editorial Pearson, México, pag 413.



# 10-ANEXOS

ANEXO Nº 1 Recolección de la especie vegetal de cassia grandis.

# 1) Masaya





2) chinandega







# 3) jalapa.





ANEXO N° 2 Extracción de la pulpa de cassia grandis















ANEXO N° 3 Procedimiento para la maceración de cassia grandis











ANEXO N  $^{\circ}$  4 Medicion del pH de los extractos de Cassia grandis L.





ANEXO  $N^{\circ}$  5- Determinacion de los solidos totales de *Cassia grandis L*.

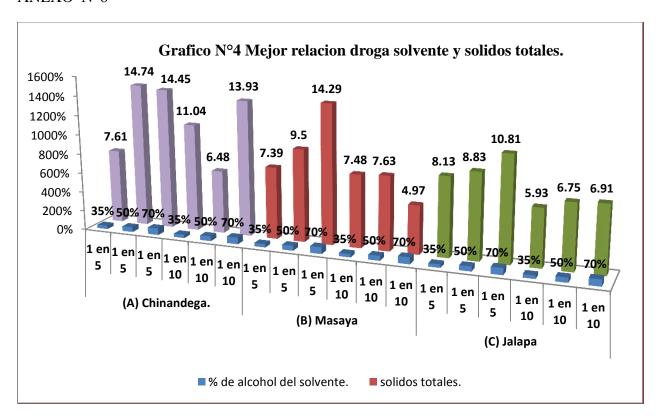






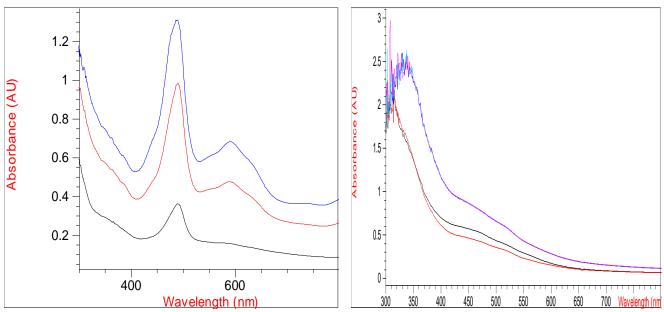


# ANEXO N° 6





# ANEXO N°7 Espectro de absorción de las muestras y el estándar.



figura# 1 estándar de Digoxina

figura #2 absorbancia de las muestras.