



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

EXTRACCIÓN A NIVEL DE LABORATORIO DE ACEITE ESENCIAL CRUDO DE PERICÓN (*Tagetes lucida Cav*), Y UTILIZACIÓN DEL DESECHO SÓLIDO PARA LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE NATURAL, PARA SU USO EN EL TEÑIDO DE FIBRAS NATURALES

Claudia Maribel Ac Santa Cruz
Asesorada por: Inga. Qca. Thelma Maricela Cano Morales

Guatemala, abril de 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**EXTRACCIÓN A NIVEL DE LABORATORIO DE ACEITE ESENCIAL CRUDO
DE PERICÓN (*Tagetes lucida Cav*), Y UTILIZACIÓN DEL DESECHO
SÓLIDO PARA LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE NATURAL, PARA SU
USO EN EL TEÑIDO DE FIBRAS NATURALES**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

CLAUDIA MARIBEL AC SANTA CRUZ

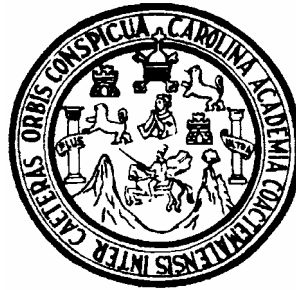
ASESORADA POR: INGA. QCA. THELMA MARICELA CANO MORALES

AL CONFERIRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

Guatemala, abril de 2005

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
VOCAL I	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL II	Lic. Amahán Sánchez Álvarez
VOCAL III	Ing. Julio David Galicia Celada
VOCAL IV	Br. Kenneth Issur Estrada Ruiz
VOCAL V	Br. Elisa Yazminda Vides Leiva
SECRETARIO	Ing. Carlos Humberto Pérez Rodríguez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Herbert René Miranda Barrios
EXAMINADOR	Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
EXAMINADOR	Ing. Julio Alberto Rivera Palacios
EXAMINADOR	Ing. Carlos Salvador Wong Davi
SECRETARIO	Inga. Gilda Marina Castellanos de Illescas

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

EXTRACCIÓN A NIVEL DE LABORATORIO DE ACEITE ESENCIAL CRUDO DE PERICÓN (*Tagetes lucida Cav.*) Y UTILIZACIÓN DEL DESECHO SÓLIDO PARA LA EXTRACCIÓN DEL COLORANTE NATURAL, PARA SU USO EN EL TEÑIDO DE FIBRAS NATURALES

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química con fecha 16 de noviembre de 2004.

Claudia Maribel Ac Santa Cruz

DEDICATORIA

A Dios	Por haberme permitido vivir este momento.
A la virgen	Por se luz y ejemplo en mi vida.
A mis padres	Marta Judith Cruz Alonzo de Ac y Flavio Leonardo Ac Caal, por brindarme todo su amor y ayuda. Que este momento sea una pequeña recompensa a todos sus sacrificios.
A mis hermanos	César, Marvin, Hugo, Mayra, Mauricio, Luis René, Denis, por todo su apoyo y ayuda ¡MUCHAS GRACIAS!
A Jennifer Andrea	Pedacito de mi ser, para que este trabajo sea para ella motivo de orgullo y ejemplo a seguir.
A Otto René	Por todo su amor y comprensión.
A mis sobrinos	Para que sigan adelante y alcancen sus metas.
A mis tíos	Especialmente a Delia Santa Cruz
A Amelia Macz	Por todos sus consejos.

A las familias

Aguilar Quiquivix y Gómez Aguilar, por todo su apoyo.

A mis amigos

Que de una u otra forma compartieron conmigo gratos momentos.

AGRADECIMIENTOS

A todos los que de una u otra forma colaboraron para el desarrollo de este trabajo de graduación, especialmente a:

Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales. Por su asesoría, consejos y paciencia.

Ing. Qco. José Eduardo Calderón García. Por su valiosa colaboración al revisar el trabajo de graduación.

Lic. Zuly Díaz. Por su ayuda en la realización de la parte experimental, especialmente en el análisis cromatográfico y espectro de absorción.

Al señor Joel Ajxup, por toda la información y experiencia brindada, para la realización de este trabajo de graduación.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	v
LISTA DE SÍMBOLOS	vii
GLOSARIO	viii
RESUMEN	xii
OBJETIVOS	xiii
HIPÓTESIS	xiv
INTRODUCCIÓN	xv
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1 Aceites esenciales.....	1
1.1.1 Antecedentes.....	1
1.1.2 Definición.....	4
1.1.3 Composición química.....	6
1.1.4 Estructura química.....	7
1.1.5 Factores que influyen en el deterioro de un aceite esencial.....	7
1.1.6 Usos de los aceites esenciales.....	8
1.1.7 Métodos de extracción de aceites esenciales.....	10
1.1.7.1 Exprimir.....	11
1.1.7.2 Extracción por arrastre con vapor.....	11
1.1.7.3 Extracción con solventes volátiles.....	13
1.1.7.4 Enflurage.....	15
1.1.7.5 Maceración.....	16
1.2 Colorantes naturales.....	16
1.2.1 Antecedentes.....	17

1.2.2	Definición.....	21
1.2.3	Distribución de los colorantes naturales.....	25
1.2.4	Clasificación de colorantes naturales utilizados en el teñido de fibras.....	28
1.2.4.1	Características físicas.....	28
1.2.4.2	Usos tradicionales.....	30
1.2.4.3	Características químicas.....	31
1.2.5	Uso artesanal de colorantes naturales en el teñido de fibras naturales.....	32
1.2.5.1	Fibras textiles naturales.....	32
1.2.5.1.1	Fibras de origen vegetal.....	33
1.2.5.1.2	Fibras de origen animal.....	33
1.2.5.1.3	Fibras de origen mineral.....	34
1.2.5.2	Teñido vegetal o natural.....	34
1.2.5.3	Tintes vegetales.....	34
1.2.5.4	Características de algunos tintes.....	38
1.2.6	Acidez y alcalinidad de los tintes naturales.....	42
1.2.6.1	Ácidos suaves.....	43
1.2.7	Mordientes.....	44
1.2.8	Taninos.....	44
1.3	El Pericón.....	45
1.3.1	Nombres comunes.....	46
1.3.2	Distribución y hábitat natural.....	46
1.3.3	Descripción botánica.....	47
1.3.4	Usos medicinales.....	49
1.3.5	Composición química.....	50
1.3.6	Farmacognosia.....	50
1.3.7	Toxicología.....	51

1.3.8	Características fisicoquímicas del aceite esencial de Pericón (<i>Tagetes lucida Cav.</i>)	52
1.4	Pigmentos naturales flavonoides	52
1.4.1	Estructura	53
1.4.2	Extracción y técnicas de identificación	54
1.5	Equipo de extracción	59
1.6	Cromatografía	60
1.6.1	Clasificación de la cromatografía	60
1.6.1.1	Cromatografía de reparto	60
1.6.1.2	Cromatografía de adsorción	62
1.6.1.3	Cromatografía de exclusión	62
1.6.1.4	Cromatografía de permeación	63
1.6.1.5	Cromatografía de intercambio iónico	63
1.6.2	Cromatografía de capa fina	63
1.6.2.1	Proceso de adsorción	64
1.6.2.2	Fase estacionaria (adsorbentes)	64
1.6.2.3	Preparación de las placas para cromatografía	65
1.6.2.4	Aplicación de la muestra	65
1.6.2.5	Desarrollo de la placa	66
1.6.2.6	Cámaras para desarrollo	66
1.6.2.7	Identificación de la especie	67
1.6.2.8	Evaluación de un cromatograma de capa fina	68
2.	METODOLOGÍA	69
2.1	Localización	69
2.2	Recursos humanos	69
2.3	Recursos materiales	70

2.4	Diseño de tratamientos y manejo del experimento.....	70
2.4.1	Metodología experimental.....	73
2.4.1.1	Extracción de aceite esencial.....	73
2.4.1.2	Extracción de colorante.....	74
2.4.2	Identificación de flavonoides.....	75
2.4.2.1	Reacciones coloridas.....	75
2.4.3	Análisis cromatográfico en capa fina.....	75
2.4.3.1	Preparación de la muestra.....	76
2.4.3.2	Preparación de las soluciones estándar.....	76
2.4.3.3	Preparación de la fase móvil.....	76
2.4.3.4	Preparación de la placa cromatográfica.....	76
2.4.3.5	Desarrollo de la placa cromatográfica.....	77
2.4.3.6	Preparación de las soluciones reveladoras.....	77
2.4.4	Espectrofotometría UV.....	78
2.4.4.1	Preparación de las soluciones.....	78
2.4.4.2	Obtención de los espectros.....	78
3.	RESULTADOS.....	79
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	85
5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	89
	CONCLUSIONES.....	92
	RECOMENDACIONES.....	93
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	94
	BIBLIOGRAFÍA.....	96
	APÉNDICE.....	98

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Planta de Pericón (<i>Tagetes lucida Cav.</i>)	48
2.	Estructura básica de los flavonoides	53
3.	Rendimiento porcentual promedio de colorante extraído	82
4.	Gráfica de absorbancia vrs longitud de onda para cada repetición	98
5.	Gráfica de absorbancia vrs longitud de onda para soluciones estándar	102
6.	Secador de Bandejas	105
7.	Equipo Neoclevenger	105
8.	Equipo Shoxlet	106
9.	Rotaevaporador	106
10.	Prueba Reacción de Shinoda	107
11.	Prueba Reacción con H ₂ SO ₄ conc.	107
12.	Desarrollo de la placa cromatográfica	108
13.	Resultado de la Cromatografía en capa fina	108

TABLAS

I.	Colorantes flavonoides	31
II.	Colorantes carotenoides	31
III.	Colorantes quinónicos	31
IV.	Especies utilizadas en el teñido de fibras	35
V.	Análisis de varianza	72

VI.	Gramos obtenidos de aceite esencial crudo de Pericón	79
VII.	Rendimiento porcentual de aceite esencial crudo obtenido	80
VIII.	Gramos de extracto de colorante natural	81
IX.	Rendimiento porcentual de extracto de colorante de Pericón	81
X.	Resultados de las pruebas de la reacción de Shinoda	82
XI.	Resultados de las pruebas de la reacción con H ₂ SO ₄ conc.	83
XII.	Resultados de la cromatografía en capa fina	83
XIII.	Nomenclatura del análisis de varianza	90
XIV.	Fórmulas para el análisis de varianza	90
XV.	Resultados del análisis de varianza	91

LISTA DE SÍMBOLOS

msnm	metros sobre el nivel del mar
cm	centímetro
mm	milímetro (10^{-3} m)
nm	nanómetro (10^{-9} m)
g	gramo
kg	kilogramo
mg	miligramo (10^{-3} g)
mg/ml	miligramos por mililitro
cm³	centímetro cúbico
ml	mililitro (10^{-3} l)
μl	microlitro
°C	grado centígrado
p.f.	punto de fusión
atm	atmósfera
UV	ultra violeta
%	porcentaje
FeCl₃	cloruro férrico
H₂SO₄	ácido sulfúrico
λ_{max}	longitud de onda máxima
R_n	número de repeticiones
S₁	metanol
S₂	acetona
S₃	etanol

GLOSARIO

Absorbancia	Propiedad que presentan las moléculas de la materia de poder absorber una determinada cantidad de luz.
Aceites esenciales	Productos químicos que forman las esencias odoríferas de un gran número de vegetales, son líquidos volátiles, en su mayoría insolubles en agua, pero fácilmente solubles en alcohol, éter y aceites vegetales y minerales.
Astringente	Propiedad de ciertas sustancias de producir constricción y sequedad en los tejidos orgánicos.
Auxócromos	Radicales químicos que dan a las sustancias colorantes cierta afinidad con las fibras. Tienen la propiedad de fijar a la fibra eficazmente el colorante deseado.
Colorantes naturales	Son materias colorantes que tienen origen vegetal o animal, y se encuentran presentes como pigmentos en plantas, hojas y frutos.
Cromóforos	Son las agrupaciones atómicas no saturadas, responsables de que se produzca absorción de la luz de la zona visible y que aparezca color.

Cromatografía

Técnica de análisis químico utilizada para separar sustancias puras de mezclas complejas, basada en la diferencia de velocidad con que se mueven los solutos a través de un medio estacionario; el flujo en un solvente llamado eluente.

Espectroscopía

Es la técnica que estudia las interacciones electromagnéticas con la materia que provocan la absorción o emisión de energía a través de la transición de los electrones entre niveles cuánticos o discretos de energía, vibraciones de enlaces, rotaciones moleculares y transición de electrones entre orbitales de átomos y moléculas.

Extracción

Procedimiento por el cual se obtienen los principios químicos de una planta, al colocarla en contacto con un solvente, en el que la sustancia que se desea separar es muy soluble, siendo el resto de los materiales de la solución insolubles en el.

Flavonoides

Pigmentos hidrosolubles que se encuentran tanto en el citoplasma como en las vacuolas de las células vegetales y son los responsables de los colores intensos de las flores y frutas. Se ubican dentro del grupo de compuestos aromáticos y fenólicos, que poseen un esqueleto carbonado $C_6-C_3-C_6$.

Fibra	Estructura de origen animal, vegetal, mineral o sintético parecida al pelo. Su diámetro no suele ser superior a 0.05 cm.
Fibras de líber	Son las fibras fuertes que crecen entre la corteza y el tallo de muchas plantas dicotiledónas, como el lino, cáñamo, yute y ramio.
Jerga	Tela gruesa y tosca.
Longitud de onda	Distancia entre dos puntos consecutivos de una onda que tienen el mismo estado de vibración.
Maceración	Procedimiento que consiste en dejar reposar las plantas en un solvente frío durante algunas horas. Sirve para extraer principios activos inestables frente al calor.
Mordiente	Sustancia que se emplea para fijar los colores en las fibras.
Neoclevenger	Aparato utilizado en la extracción de aceites esenciales, por medio del método de extracción por arrastre con vapor en caldillo, el destilado se recoge en un tubo graduado donde la fase acuosa es automáticamente separada de la fase oleosa y es devuelta al balón de extracción. El aparato consta de tres partes principales: balón de extracción, tubo graduado, refrigerante de reflujo.

Odorífero	Compuesto que tiene la característica de tener buen olor o fragancia.
Pigmento	Sustancias polvorosas de color que precisan mezclarse con agentes adhesivos antes de aplicarse a una superficie.
Secado	Operación unitaria que consiste en la eliminación de agua interior de ciertos productos mediante un gradiente de temperatura entre el interior del producto con el medio de calefacción.
Soxhlet	Aparato de extracción semicontinua, en donde el sustrato se agrega al principio, mientras que el solvente cumple un ciclo de extracción-purificación continuo. La purificación se realiza por destilación, de tal manera que el sustrato siempre está en contacto con el solvente. El aparato consta de tres partes principales: el matraz, la cámara de extracción y el refrigerante de reflujo.
Teñido	Proceso en el que se colorean fibras textiles y otros materiales de forma que el colorante se convierta en parte integrante de la fibra o materia.

RESUMEN

Se realizó la extracción, a nivel de laboratorio, de aceite esencial crudo de la planta de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), empleando el método de extracción por arrastre con vapor en caldillo, con el equipo denominado Neoclevenger, con el objetivo de determinar el rendimiento de aceite esencial crudo y utilizar el desecho sólido para la extracción del colorante natural, empleando el método de extracción semicontinua en Soxhlet, con el fin de determinar con que solvente se obtienen mejores rendimientos. Los solventes que se utilizaron son: acetona, metanol, etanol.

Para realizar la experimentación se utilizaron muestras de 100 gramos de la planta seca triturada, con períodos de extracción de aceite esencial de 2 horas, utilizando como solvente hexano, realizando nueve extracciones. Se separó el aceite esencial crudo, y se mantuvo en refrigeración en frascos color ámbar, hasta realizarle los análisis correspondientes, el desecho sólido se secó a temperatura no mayor de 40 °C , hasta que presentó peso constante, luego se procedió a la extracción del colorante natural.

Para la extracción del colorante se utilizaron muestras de 10 gramos de materia seca, haciendo tres repeticiones para cada solvente. Los extractos se concentraron al vacío, a temperaturas menores de 40 °C. Luego de obtener los extractos, se mantuvieron en refrigeración y protegidos de la luz directa, hasta realizar los análisis correspondientes.

Se utilizaron reacciones coloridas, para identificar el tipo de colorante, así como cromatografía en capa fina y espectro de absorción.

OBJETIVOS

General

Extraer a nivel de laboratorio aceite esencial crudo de la planta de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), y utilizar el desecho sólido, para extraer colorante natural, por medio de tres solventes.

Específicos

1. Determinar el rendimiento de aceite esencial crudo extraído de la planta de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*) por medio del método de extracción por arrastre con vapor en caldillo.
2. Determinar el rendimiento del colorante obtenido del desecho sólido del Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), utilizando tres solventes para la extracción.
3. Caracterizar el tipo de colorante obtenido del Pericón (*Tagetes lucida Cav.*) por métodos de espectrofotometría y cromatografía en capa fina.
4. Crear una fuente de información sobre colorantes naturales y la importancia que éstos están cobrando en la industria textil guatemalteca.

HIPÓTESIS

Hipótesis general

Es factible el uso del desecho sólido obtenido del Pericón (*Tagetes lucida* Cav.), utilizado en la extracción de aceite esencial crudo, como fuente de colorante natural para teñir fibras naturales.

HIPÓTESIS ESTADÍSTICA

Hipótesis nula

El rendimiento de colorante, obtenido en la extracción es independiente del solvente utilizado.

$$\mu_1 = \mu_2 = \mu_3$$

Hipótesis alternativa

El rendimiento de colorante natural obtenido varía significativamente dependiendo del solvente utilizado.

$$\mu_1 \neq \mu_2 \neq \mu_3$$

INTRODUCCIÓN

En la actualidad la demanda por los productos naturales provenientes de plantas y animales es mayor, las normas que rigen los mercados mundiales son cada vez más estrictas en cuanto al uso de colorantes naturales en alimentos, cosméticos, fibras, medicamentos.

El presente trabajo de investigación se refiere al estudio de una planta bastante común en nuestro medio, el Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), el cual aparte de tener propiedades medicinales, también es portador de compuestos que proporcionan colorantes.

Del Pericón (*Tagetes lucida Cav*), se han hecho varios estudios sobre el aceite esencial que proporciona, pero también se ha observado que es portador de compuestos que proporcionan color, dependiendo de la parte que se estudie.

El objetivo de este estudio es determinar el rendimiento de colorante que se puede obtener del desecho sólido del Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), luego de extraer el aceite esencial crudo, utilizando tres solventes, y evaluando el solvente con el cual se producen mayores rendimientos, así como el uso que se le puede dar al colorante obtenido.

La importancia de este estudio, radica en que se cuenta en la región, con varias plantas de las cuales se pueden obtener colorantes. Estos colorantes naturales derivados de plantas, árboles, raíces, semillas e insectos, han sido usados en alimentos, cosméticos y textiles.

Actualmente los tintes naturales tienen un gran valor para las artesanías del país, debido a que pueden usarse en el teñido de hilo de algodón y lana, telas, yute, palma, cuero, pieles, plumas, paja, madera, flores naturales y artificiales, jabones, velas y aserrín.

Su valor radica en que son productos de la naturaleza, contrario a los tintes químicos, con contenidos azocolores, que hacen daño a la naturaleza humana.

Para la realización del experimento se utilizaron como materia prima, hojas secas de la planta de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), cristalería, material y equipo de laboratorio, reactivos. Al obtener el extracto se realizaron pruebas coloridas, luego se analizaron por medio de cromatografía y espectrofotometría, para determinar su composición química.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Aceites esenciales

Los productos obtenidos de las plantas fueron utilizados por las antiguas civilizaciones, los aceites esenciales se produjeron y se usaron por primera vez en Egipto, Persia y la India.

Uno de los avances se llevó a cabo cuando se descubrió que si ciertas especies y flores se maceraban en grasa o aceite, la grasa o el aceite podrían retener una parte de su principio odorífero. De esta forma se prepararon ungüentos y fragancias de fama bíblica. Avicena médico árabe, descubrió la extracción por arrastre con vapor de aceites volátiles. Durante su búsqueda de pociones médicas, encontró que las flores hervidas en un alambique con agua desprendían algunas de sus esencias al destilado. Los cruzados llevaron a Europa todo el arte y la destreza del Oriente en perfumería, así como la información sobre las fuentes de resinas, aceites y especies. (1)

1.1.1 Antecedentes

El médico español Arnaldo de Villanova (1235-1377), describió por primera vez la extracción por arrastre con vapor de aceites esenciales con fines terapéuticos. Philippus Von Hohenheim (1493-1541) médico suizo, desarrolló una teoría acerca de la *quinta esencia*, la parte más sutil de una sustancia utilizada para fines terapéuticos.

La naturaleza de los aceites esenciales fue estudiada por los farmacéuticos Baumé, Rovellet, Bindheim, Hoffman y Glauber en los siglos XVII y XVIII. Sin embargo, la industria de los aceites esenciales surgió en el siglo XIX, a consecuencia de los trabajos experimentales de Lavoisier.

A principios del siglo XX se publicó un exhaustivo estudio sobre el aceite esencial de trementina, por el científico G. Houston de la Billardiere, en el que encontró una proporción de carbono e hidrógeno de 5:8, que se estableció más adelante para todos los hemiterpenos, terpenos, sesquiterpenos y politerpenos.

Kekulé empleó por primera vez el término **terpeno**, pero quien profundizó sobre la investigación de éstas sustancias contenidas en los aceites esenciales fue O. Wallace. Desde entonces se ha incrementado el conocimiento y estudio de los aceites esenciales.

Se han realizado recientemente en la Universidad de San Carlos de Guatemala estudios acerca de la extracción de aceites esenciales de diversas plantas medicinales populares, como la albahaca, tomillo, romero, hoja de naranja agria, manzanilla, pericón, entre otras.

En el año de 1992, el estudio titulado **Determinación de la acción antiespasmódica del aceite esencial del pericón (*T. lucida*)**, realizado por el Químico Farmacéutico Daniel Ortiz, determinó que el aceite esencial posee actividad antiespasmódica in vitro, y que ésta es mayor ante cloruro de bario que ante acetilcolina.

Otro estudio realizado en el año de 1995 titulado **Determinación de la concentración y rendimiento de 7-metoxicumarina y aceite esencial, en cinco estados de desarrollo del pericón (*T. Lucida*) en la Alameda, Chimaltenango**, realizado por la Inga. Agrónoma Claudia Barillas, concluyó que la mayor concentración de aceite esencial se encuentra en las hojas, cuando la planta esta en plena floración.

En la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería, USAC, se han realizado estudios de Extracción de Aceites Esenciales con varias plantas, uno de ellos es el proyecto 77-00 de la línea FODECYT del CONCYT, denominado **Obtención y caracterización de Aceite Esencial de cuatro plantas medicinales cultivadas a diferentes niveles altitudinales de Guatemala** el cual fue coordinado por la Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales, las plantas medicinales estudiadas en este proyecto fueron, manzanilla, pericón, hinojo y ajeno. En relación al Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), el estudio se hizo a nivel de la planta piloto de extracción-destilación, empleando el método de extracción con arrastre de vapor directo, usando como solvente hexano y períodos de extracción de 2 horas y temperaturas entre 78 °C – 94 °C, en el cual se estudiaron cuatro lotes diferentes de materia prima provenientes de distintos niveles altitudinales, con tres repeticiones para cada lote, obteniendo rendimientos muy cercanos en el lote proveniente del nivel altitudinal de 1776 msnm, al reportado por Fenarolis(1998) y Cáceres(1998), que se encuentra en el rango de 0.3 % - 0.4 % en masa, dependiendo de la región de producción. El estudio más reciente lo realizó el Ing. Químico Werner Ottoniel Valiente Mazariegos, en el año 2003 titulado **Evaluación del rendimiento de aceite esencial de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*) procedente de tres niveles altitudinales de Guatemala**, realizando el estudio a nivel de laboratorio y de planta piloto.

Concluyendo que a nivel de planta piloto el rendimiento de aceite esencial depende del nivel altitudinal, así como del tamaño de la partícula, y a nivel de laboratorio el rendimiento de aceite esencial depende del tamaño de la partícula.

1.1.2 Definición

De acuerdo a la definición adoptada por Stteffen Arctander en su obra *Perfume and Flavor Materials of Natural Origin*, los aceites esenciales **son productos odoríferos obtenidos de materias primas naturales por destilación, habitualmente con agua o vapor o, como en el caso de los frutos cítricos, mediante un proceso mecánico.**

La doctora Olga Lock de Ugaz en su libro de Investigación Fitoquímica, los define como **los constituyentes odoríferos o esencias de una planta.**

También se pueden definir según George T. Austin como aceites volátiles odoríferos de origen vegetal, sin embargo, se debe hacer una distinción entre aceites naturales de flores obtenidos por enflurage o extracción por disolventes y aceites esenciales que se recuperan por arrastre con vapor. A los aceites extraídos les puede faltar algún componente que no sea lo suficientemente volátil o que se pierda durante la extracción, por ejemplo en el aceite de rosas, el alcohol feniletílico se pierde en la porción acuosa del extracto, y el aceite de azahar, en el cual el aceite extraído contiene una cantidad mínima de antranilato de metilo, mientras que el aceite extraído de la flor puede contener tanto como una sexta parte de este componente. (1)

El término aceite, probablemente, se origina del hecho que el aroma de una planta existe en las glándulas o entre las células en forma líquida, el cual al igual que los aceites grasos son inmiscibles con el agua y solubles en disolventes orgánicos. La palabra esencial se deriva del latín *quinta essentia* que significa el quinto elemento, asignado a estos aceites, ya que la tierra, el fuego, el aire y el agua, fueron considerados los cuatro primeros elementos. (2)

Los aceites esenciales se pueden encontrar en muchas especies de las familias de las *Umbeliferae* (apio, comino, perejil, anís), de *Rutaceae* (limón, naranja, lima, mandarina), de *Labiataeae* (lavanda, romero, timol, orégano), de *Mirtaceae* (eucalipto, clavo), *Piperaceae* (pimiento, matico), entre otras.

Los aceites esenciales son arrastrables con corrientes de vapor de agua. Difieren de los aceites fijos por sus propiedades, tanto químicas como físicas. Un aceite esencial puede localizarse en un determinado órgano vegetal, flores, hojas, frutos y hasta raíces o en toda la planta, por ejemplo, en la rosa, sólo se encuentran en el pétalo; en el comino, en las semillas; en clavo de olor, en el brote o yema; en la lima, en los frutos; en la menta, en los pelos glandulares de las ramas y hojas. Cuando se localiza en toda la planta la composición puede ser igual o diferente, por ejemplo, la canela, el aceite esencial obtenido de las hojas contiene principalmente eugenol, de la corteza principalmente cinamaldehído y de la raíz el alcanfor. Algunos aceites esenciales se encuentran en la planta en forma de precursores no volátiles, frecuentemente glicósidos, la descomposición es enzimática o en medio ácido diluido, esto se observa en las almendras amargas, pimienta negra. Las esencias se producen en glándulas especiales formadas por células secretoras arregladas para formar una bolsa donde se acumula el aceite esencial. (3)

1.1.3 Composición química

En un aceite esencial pueden encontrarse hidrocarburos alicíclicos y aromáticos, así como los derivados oxigenados, con la excepción de las esencias derivadas de heterósidos (por ejemplo las de almendras amargas y mostaza). En algunos aceites esenciales, por ejemplo, la trementina, predominan los hidrocarburos y existen sólo cantidades pequeñas de componentes oxigenados, y en otros, por ejemplo la esencia de clavo, la mayoría de los compuestos son oxigenados. (4)

El olor y el sabor de las esencias están determinados principalmente por estos componentes oxigenados que, por lo general, son notablemente solubles en agua (agua de azahar, agua de rosas, etc.).

Muchos de los aceites esenciales son de origen terpenoide y sólo un pequeño número de ellos, como los de canela y de clavo, contienen principalmente derivados aromáticos (bencénicos). (4)

El gran número de compuestos químicos contenidos en los aceites esenciales se pueden clasificar de la siguiente manera: ésteres (principalmente ácido benzoico, acético, salicílico y cinámico), alcoholes (linalol, geraniol, citronelol, terpinol, mentol, borneol), ácidos (benzoico, cinámico, mirístico, isovalérico; todos en estado libre), fenoles (eugenol, timol, carvacrol), cetonas (carvona, mentona, pulegona, irona, fenchona, tujona, alcanfor, metil nonil cetona, metil heptanona), aldehídos (citral, citronela, benzaldehído, cinamaldehído, aldehído cumínico, vainilla), éteres (ciñelo, éter interno (eucaliptol), anteol, safrol), lactonas (cumarina), terpenos (canfeno, pineno, limoneno, felandreno, cedreno) e hidrocarburos (cimeno, estireno (fenil etileno)). (1)

1.1.4 Estructura química

Los hidrocarburos contenidos en los aceites esenciales se denominan colectivamente terpenos, y al igual que el caucho, derivan probablemente de la condensación de unidades de isopreno, C_5H_8 .

Los aceites esenciales químicamente están formados por la mayoría de los monoterpenos y algunos sesquiterpenos y compuestos aromáticos.

Los terpenos propiamente dichos, $C_{10}H_{16}$ pueden ser de cadena abierta, por ejemplo, el mircenol, monocíclicos como el p-cimeno, limoneno y felandreno, o bicíclicos como el pineno y canfeno. Los sesquiterpenos, $C_{15}H_{24}$ pueden ser de cadena abierta, como el farnesol, monocíclicos como el zingibereno o bicíclicos como el cadineno.

Entre los derivados oxidados de terpenos pueden mencionarse los alcoholes de cadena abierta (geraniol, nerol y citronelol) y los aldehídos relacionados (geranial y citral). Los alcoholes terpénicos monocíclicos están representados por el mentol y el terpineol; son bicíclicos el alcohol borneol y la cetona alcanfor. (3)

1.1.5 Factores que influyen en el deterioro de un aceite esencial

Los factores que influyen en el deterioro de un aceite esencial son varios entre los que podemos mencionar las reacciones generales de oxidación, resinificación, polimerización o hidrólisis de ésteres, reacciones que son activadas por el aumento de temperatura, la presencia de aire (oxígeno), siendo también muy importante la humedad y la luz.

Los aceites que contienen cantidades apreciables de terpenos, se ven afectados especialmente, tal es el caso del té de limón y de cítricos. Como los terpenos son hidrocarburos no saturados, absorben fácilmente oxígeno del aire.

Como regla general, cualquier aceite será tratado antes de almacenarlo, removiéndole impurezas metálicas, humedad y materia suspendida. Los envases deben quedar completamente llenos, colocándose en un lugar fresco y protegido de la luz. Antes de sellar los recipientes es conveniente burbujear nitrógeno o anhídrido carbónico para desalojar del envase la cámara de aire que pudiera haber quedado dentro del aceite.

La presencia de hierro es otro de los factores que producen deterioro, ya que éste actúa como catalizador de varias reacciones de descomposición. Cuando se realiza una destilación el aceite esencial entra en contacto con oxígeno, agua, altas temperaturas y hierro durante períodos prolongados. El resultado es la descomposición de aldehídos que contiene el aceite esencial transformándose en resinas que al estar presentes en el aceite esencial reflejan la calidad de aceite y por consiguiente su precio, ya que durante el fraccionamiento posterior del aceite la economía se verá afectada por este producto resinoso que tiene poco mercado y además causa problemas en el procesamiento y al equipo.

1.1.6 Usos de los aceites esenciales

Los aceites esenciales han sido utilizados durante mucho tiempo, constituyen las materias primas básicas de los fabricantes de perfumes.

También son materias básicas para los que elaboran sustancias saporíferas, se utilizan en la industria alimenticia o como fuente de materias primas, por ejemplo, el citral obtenido del zacate limón se ha usado para sintetizar vitamina A. En cuanto al papel biológico que desempeñan las esencias en los vegetales se ha especulado mucho, algunos por ejemplo, intervienen como hormonas en la polinización; sirven de atrayente de insectos poleníferos; regulan la transpiración; son productos de desecho metabólico. (3)

En general, los aceites esenciales son utilizados comúnmente como aromatizantes de cosméticos, perfumes, desodorantes ambientales, en preparaciones farmacéuticas y semifarmacéuticas, saborizantes de medicinas, bebidas (alcohólicas y no alcohólicas) y alimentos, carnes salsas, enlatados, pastelería, también en dulces, confitería, gomas masticables, sopas, desinfectantes, artículos de baño, etc.

El aceite esencial del Pericón (*Tagetes lucida Cav.*), se utiliza en la industria licorera y en la elaboración de perfumes. Además se estudia su aplicación como antiespasmódico, existiendo ya un estudio en el cual se revela la actividad de éste en extracto alcohólico, ya que posee mayor potencial espasmolítico ante cloruro de bario, actuando a través de un mecanismo antagonista no competitivo. También se ha encontrado que tiene actividad inhibitoria microbiana en extractos provenientes de plantas recolectadas en plena floración.

Estos aceites constituyen una valiosa fuente de ingresos, aunque de carácter más bien secundario, para gran número de pequeños agricultores y negociantes en pequeña escala en países de desarrollo, aunque existe también una producción más organizada a escala de plantaciones.

Tanto los aceites esenciales como las oleorresinas de especias, por estar altamente concentrados, son productos de reducido volumen y elevado valor cuya preparación en muchos casos no presenta dificultades técnicas y cuyo transporte a los puntos de destino de ultramar es invariablemente barato. (5)

1.1.7 Métodos de extracción de aceites esenciales

Los aceites volátiles se pueden obtener de las plantas por varios métodos: (1)

1. por el acto de exprimir
2. por arrastre con vapor
3. por extracción con solventes volátiles
4. por enflurage
5. por maceración

La mayor parte de los aceites se obtienen por extracción, generalmente con vapor, pero ciertos aceites se pueden dañar con altas temperaturas. Los aceites cítricos extraídos son de calidad inferior por lo tanto se obtienen al exprimir. Para ciertas flores que no liberan aceite por extracción por arrastre con vapor o lo hacen con deterioración del aceite, se emplean los tres últimos métodos. Sin embargo, la extracción con disolventes volátiles, un proceso relativamente reciente, ha sustituido a la maceración (extracción con grasas calientes) para todos los propósitos prácticos y está reemplazando al enflurage. La extracción por solventes es el proceso más avanzado en cuanto al aspecto técnico y produce olores verdaderamente característicos, pero es más costoso que la extracción por arrastre con vapor.

1.1.7.1 Exprimir

Al exprimir por máquinas puede producirse un aceite casi idéntico al producto exprimido a mano y es el método aplicado en forma comercial. De los procesos de exprimir a mano, el proceso de esponja es el más importante, ya que produce el aceite de mayor calidad. Aquí la fruta se parte y la piel se monda y se sumerge por varias horas; cada cáscara se prensa contra una esponja y el aceite se absorbe en ella, que se exprime periódicamente.

1.1.7.2 Extracción por arrastre con vapor

La extracción generalmente se efectúa con vapor, las flores y hierbas se cargan normalmente sin preparación. Las hojas, raíces jugosas y varas se cortan en trozos pequeños. Los materiales secos se pulverizan. Las maderas y raíces fuertes se cortan en pequeños pedazos o se astillan mecánicamente.

Las semillas y bellotas se alimentan a través de rodillos quebradores por un espacio suficiente sólo para romperlas. Las bayas se cargan en su estado natural, ya que el calor de extracción pronto desarrolla suficiente presión para romper su integumento.

La extracción por arrastre con vapor puede ser:

- a. Por arrastre con vapor directo, que consiste en poner en contacto vapor seco, generado en una caldera, con el material vegetal preparado, para posteriormente condensar el vapor.

Este método ofrece la ventaja que el vapor de agua se introduce en el material vegetal a una mayor presión, pudiendo, de esta manera, romper con facilidad las micelas donde se encuentra confinado el aceite esencial. Tiene la desventaja de no poder reducir de tamaño las partículas a tamices muy pequeños, ya que el vapor arrastraría el material vegetal, contaminando el condensado.

- b. Por arrastre con vapor en caldillo, en este método el material vegetal está en contacto directo con agua hirviendo. Se coloca el material vegetal en un recipiente y se inunda con agua, se suministra calor, para generar vapor, el cual está en íntimo contacto con el material vegetal, conduciéndolo después al condensador. En este método el tamaño de la partícula puede ser de un tamiz muy pequeño sin que exista riesgo de que el vapor lo arrastre, ya que al ser generado el vapor en el mismo recipiente su presión es menor que la del vapor generado en una caldera. La desventaja de baja presión se compensa al reducir el tamaño de las partículas del material vegetal a un tamiz menor que el utilizado en el método anterior. Exponiendo de ésta manera una mayor cantidad de micelas que contiene el aceite esencial.

- c. Por extracción mixta, el material es soportado sobre una red perforada o una reja insertada a una distancia sobre el fondo del extractor. La parte baja del extractor es llenada con agua a un nivel por debajo de la red y el agua puede ser calentada por alguno de los métodos previamente mencionados. Las características de este método son: el vapor siempre está saturado, húmedo y nunca sobrecalentado; el material está en contacto solamente con el vapor y no con el agua hirviendo.

1.1.7.3 Extracción con solventes volátiles

El factor más importante para lograr el éxito de este método es la elección del solvente. El solvente debe tener las siguientes características:

- a. Ser selectivo, esto es, disolver rápida y totalmente los componentes odoríferos, con sólo una parte mínima de materia inerte.
- b. Tener un bajo punto de ebullición.
- c. Ser químicamente inerte al aceite.
- d. Evaporarse completamente sin dejar residuo odorífero.
- e. Ser de bajo precio y de ser posible no inflamable.

Entre los solventes que pueden utilizarse se encuentran el éter de petróleo altamente purificado, hexano, acetona y benceno. El primero se prepara por rectificación repetida y tiene un punto de ebullición no mayor de 75 °C. Cuando se utiliza benceno, se purifica en especial por cristalización repetida; el hexano y acetona también dan muy buenos resultados.

Otro proceso de extracción que utiliza solventes es la extracción con fluidos en estado supercrítico, este proceso es una operación unitaria que aprovecha el poder disolvente de fluidos a temperaturas y presiones por encima de sus valores críticos.

Un fluido supercrítico tiene propiedades entre un líquido y un gas, estas propiedades incrementan el poder como solvente de un fluido supercrítico y le proporciona mayor poder penetrante en el material a extraer.

Los solventes supercríticos son superiores a los líquidos para penetrar en los microporos de una estructura sólida. Algunos de los solventes usados en este proceso son: etileno, clorotrifluorometano, dióxido de carbono, etano, propileno, acetona, benceno y agua. Entre ellos el dióxido de carbono es considerado el solvente supercrítico ideal porque no es tóxico, ni inflamable, es barato y con una baja temperatura crítica.

Las ventajas de este proceso, comparadas con la destilación y la extracción con líquidos son:

- Se pueden lograr y controlar una determinada selectividad en el proceso de extracción.
- El extracto queda virtualmente libre de solvente residual.
- Los fluidos supercríticos pueden usarse para vaporizar sustancias no volátiles y termolábiles a temperaturas moderadas.
- Se reduce el requerimiento energético comparado con la extracción por arrastre con vapor.
- Se pueden usar fluidos supercríticos no tóxicos como el dióxido de carbono en industrias alimenticias y farmacéuticas sin contaminar el producto.

- La baja viscosidad y la alta difusividad provee ventajas sobre las velocidades de transporte del solvente.
- El extracto puede ser fraccionado en numerosos componentes, aún si ellos tienen volatilidades semejantes.

Este proceso conjuga las ventajas de la destilación y de la extracción con líquidos. Leves cambios en temperatura y la presión en la zona crítica provocan grandes cambios en la densidad del solvente y por ende en su poder disolvente.

Actualmente este proceso se utiliza en la descafeinización del café y del té, en el refinamiento y recuperación de aceites y la extracción de lípidos y colesterol, en la extracción de colorantes y en otras áreas relacionadas con la extracción y refinamiento de distintos productos naturales.

1.1.7.4 Enflurage

El proceso de enflurage es un proceso de extracción de grasas en frío que se aplica sólo en algunos tipos de flores delicadas, por ejemplo, el jazmín, tuberosa, violeta entre otras, y que produce aceites que de ninguna forma se podrían obtener por destilación. Consiste en poner en contacto las flores con una capa delgada de grasa dentro de cámaras pequeñas, al desprenderse el perfume de las flores se fija en la grasa, debido a su gran afinidad y después de renovar varias veces las flores se dejan los pétalos 24 horas sobre la grasa. Pasados 60 días aproximadamente, al final de período de recolección, la grasa llega a estar saturada con el aceite de la flor. La grasa o base consiste en una mezcla altamente purificada de una parte de sebo y dos partes de manteca, con 0.6 % de benzoína como conservador.

La extracción alcohólica de la grasa olorosa, llamada pomada, da una solución llamada extracto, eliminando el alcohol por destilación, se produce el absoluto de enfloración.

1.1.7.5 Maceración

Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un menstuo hasta que este penetre en la primera estructura celular ablandando y disolviendo las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no se ataque con el solvente, en este se coloca el material vegetal con el solvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido y se exprime el residuo. Si el material aún contuviera el principio de interés, se repetirá el proceso con solvente fresco (puro) tantas veces como sea necesario.

1.2 Colorantes naturales

Los colorantes han sido ampliamente utilizados en la preparación de alimentos y bebidas, y siguen siendo a nivel mundial una contribución significativa en la preparación y procesamiento de los mismos. De igual manera, desde la antigüedad, antes del desarrollo de la industria de colorantes de síntesis, el teñido de fibras se hacía con plantas conteniendo colorantes naturales, llamadas especies tintóreas. (2)

1.2.1 Antecedentes

Los pigmentos naturales para textiles, derivados de plantas, animales y minerales, han sido usados por miles de años. Históricamente, la mayoría de las fuentes de colorantes naturales han sido recolectados en estado silvestre.

Sólo algunos pocos, como el índigo y la cochinilla han sido cultivados comercialmente a gran escala. A mediados de 1800, los químicos empezaron a producir sustitutos sintéticos de colorantes naturales y por 1914, solamente el cuatro por ciento del índigo utilizado como colorante para textil era extraído de plantas. Posteriormente, se ha incrementado el interés en colorantes naturales a medida que los consumidores toman conciencia de los problemas ecológicos y ambientales relacionados con el uso de colorantes sintéticos.

El uso de colorantes naturales disminuye significativamente la calidad de afluentes tóxicos relacionados con el proceso de tinción. Los colorantes naturales son, a menudo, utilizados en fábricas de cáñamo o algodón de crecimiento orgánico, el cultivo requiere menos sustancias sintéticas que el cultivo del algodón convencional.

En la actualidad, existe gran cantidad de información que abarca desde la siembra, hasta la aplicación de los colorantes, tanto de origen natural como sintéticos.

El área Maya, por su localización en la franja del trópico, cuenta con una gran diversidad de flora y fauna originada gracias a las grandes diferencias de altitud y pluviometría.

En ella encontramos cuatro de los colorantes más preciados a través de la historia humana, los cuales son: el añil que se extrae de la planta llamada jiquilite, el caracol de la púrpura (*Púrpura patula*) oriundo de las costas del Pacífico y golfo del Caribe, el insecto de la grana cochinilla (*Dactylopius coccus*, antiguamente *Coccus cacti*), huésped de las plantas del género *Opuntia* y *Nopalea* y el *Haematoxylon campechianum* de los yucatecos, que los españoles denominaron **palo de Campeche** en alusión al principal punto de procedencia en las llanuras pantanosas de esa provincia.

Guatemala, desde la época colonial y hasta finales del siglo XIX fue uno de los principales productores y exportadores de materias colorantes naturales en el mundo entero. La cochinilla, el añil y el palo amarillo eran los principales colorantes que se producían.

En los libros antiguos, como los Códices Mayas pueden encontrarse referencias acerca de los colorantes naturales utilizados por los indígenas en los años de esplendor de la cultura Maya. Años después, en la época de la conquista, los mismos españoles llevaron al viejo mundo el añil o jiquilite, materia tintórea de color azul intenso, que los aborígenes de América Central usaban para teñir las plumas de sus penachos. En la época colonial, los tintes naturales y el cacao, ocuparon un lugar importante en la producción nacional. Se teñían los hilos de lana y algodón con gran variedad de colorantes naturales.

A partir de 1870 aproximadamente, los colorantes químicos empiezan a ser una fuerte competencia para los tintes naturales. Hasta el año 1920, la cochinilla se usaba para teñir en color rojo, la mayor parte de la producción se encontraba en La Antigua Guatemala y Amatitlán.

La necesidad de volver lo natural, en armonía con el medio ambiente, ha influenciado en los estudios de colorantes naturales obtenidos de plantas y animales, para ser utilizados en la industria de los alimentos, textiles, cosméticos y medicamentos, actualmente se han realizado trabajos de investigación sobre este tema y se han establecido de esta manera fundamentos científicos.

En el año 1987, Augusto Domínguez, de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, desarrolla el trabajo de investigación denominado: **Extracción de los pigmentos colorantes del tipo Xantófilas contenido en la flor *Tagetes erecta* (Marigold), (esta flor es una planta ampliamente conocida por su alto contenido de colorantes del tipo carotenoides), utilizando los métodos de saponificación en frío y saponificación en caliente para determinación de Xantofilas**, presentados por el AOAC. en su 13^a. edición (1980), demostrando que mediante el método de saponificación en frío se obtienen resultados más altos, que el método de saponificación en caliente.

En el año de 1999, se realizó un curso de tintorería natural para tejedores momostecos, el cual fue subvencionado por el PROYECTO ALA 94/81 PRODETOTO, SEP/UE, PROSIGUA, PROART, CEDART y ejecutado por la FUNDACIÓN GABINA J.M., éste tenía como objetivo publicar un manual para el tintorero momosteco, en donde se explica el procedimiento del teñido de hilos de algodón y lana con tintes naturales, especifica el equipo y tipo de instalación para el tintorero, proporciona una lista de las sustancias botánicas de donde se extraen algunos tintes, así como los parámetros que deben controlarse en todo proceso de teñido. Es de hacer notar que todo este procedimiento se realiza de manera rudimentaria y empírica.

En la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería USAC, en la línea de investigación de Extractos Vegetales de la Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales, se han realizado estudios de Extracción de Colorantes Naturales.

En el año 2000, Marco Donado, de la Facultad de Ingeniería USAC, trabajó en la **Extracción de carotenoides de la caléndula (*caléndula Officinalis L.*) para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano**, por dos métodos de extracción a nivel laboratorio, demostrando que sí es factible obtener carotenos a partir de la flor de caléndula, usando como solvente acetona y éter etílico. En marzo de 2004, Henry Estuardo del Cid Vásquez presentó su trabajo de tesis titulado **Extracción a nivel de laboratorio, de los pigmentos colorantes del tipo flavonoides contenidos en la flor del Subín (*Acacia farnesiana L. Willd*) proveniente de un bosque silvestre guatemalteco**, en el cual se estudia el rendimiento promedio de extracto de flavonoides en relación a la cantidad de materia prima utilizando tres solventes y empleando el método Soxhlet, determinando mediante pruebas colorimétricas, cromatográficas y espectrofotométricas, que sí existe presencia de colorantes flavonoides (principalmente Quercetina, hiperósido, rutina). En octubre de 2004 Byron Alfredo Quiñónez Figueroa realizó el trabajo titulado **Extracción de colorante de chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) a nivel de laboratorio con tres solventes** con el objetivo de extraer colorantes del tipo carotenoides contenidos en el chile jalapeño (*Capsicum annum L.*) en estado maduro a nivel de laboratorio con tres diferentes solventes provenientes del departamento de Santa Rosa, específicamente Barberena, utilizando un extractor de cuchillas. Concluyendo que existe diferencia significativa entre los rendimientos promedio de cada solvente utilizado en la extracción de colorante del tipo carotenoides provenientes del chile jalapeño.

1.2.2 Definición

Un colorante natural es toda aquella materia colorante que tiene origen vegetal o animal.

Para que una sustancia coloreada, sea considerada un colorante, deberá contener grupos cromóforos llamados auxócromos, los que dan a la sustancia afinidad con la fibra.

De acuerdo a la investigación de la Doctora Olga Lock Sing de Ugaz, en su obra titulada Colorantes Naturales, el teñido con colorantes naturales fue hecho desde tiempos prehistóricos hasta la mitad del siglo XIX, donde las plantas, animales y minerales fueron las únicas fuentes como agentes colorantes utilizados para teñir o pigmentar.

Las primeras fibras teñidas fueron usadas aproximadamente alrededor del año 1000 a.C. estos teñidos fueron simples y fueron los primeros ejemplos de la aplicación de los llamados colorantes directos o colorantes sustantivos, sin embargo resultaron de muy pobre solidez, pobre resistencia al lavado y a la luz, posteriormente fueron desarrollados teñidos más sofisticados, produciéndose colores con mejor solidez.

La historia esta llena de ejemplos de aplicaciones con aditivos colorantes. Pinturas en tumbas egipcias que datan de 1500 años a.C. presentan la manufactura de dulces coloreados. El vino ha sido artificialmente coloreado por siglos antes del nacimiento de Cristo y, es bien sabido que las especias y condimentos eran coloreados, por lo menos, 500 años atrás.

Las plantas utilizadas, así como los antiguos procedimientos de teñido han sido registrados, especialmente por dos historiadores del primer siglo después de Cristo. Plinio El Viejo, naturista romano, refiere en sus escritos dos colorantes comunes usados por las tribus Gálicas, el índigo y el glasto, mientras que el griego Dioscórides describe los colorantes de la **rubia** para el rojo, del azafrán (de los estigmas del *Crocus sativa*) y gualda (de *Roseda luteola*) para amarillos, glasto para el azul, *Alkanna tinctoria* para rojo, entre otros.

Durante la Edad Media, alrededor de 1250 d.C., los procedimientos de tintura fueron registrados por los monjes medievales. En aquellos tiempos las mismas plantas eran usadas para teñir y para fines medicinales. El uso de colorantes en drogas, indudablemente, ha tenido una larga historia, debido a que el color ha sido asociado con enfermedades y su tratamiento desde la antigüedad. Muchas prácticas han sido documentadas en papiros egipcios.

Hasta mediados del siglo XIX, los colorantes usados en alimentos, drogas y cosméticos y textiles, fueron materiales fáciles de obtener de fuentes naturales como animales, vegetales y minerales. Sin embargo la importancia de los colorantes naturales disminuyó cuando en 1856, en Inglaterra, William Henry Perkin, en su intento de sintetizar quinina, oxidó sulfato de anilina con dicromato potásico y produjo el primer colorante sintético, la mauveína, de color púrpura. Posteriormente, los químicos alemanes perfeccionaron los colorantes derivados del alquitrán de hulla, hasta tal punto, que empresas de colorantes vegetales se arruinaron, totalmente, antes de que finalizara el siglo XIX.

En los últimos 130 años, se han sintetizado varios miles de compuestos químicos coloridos, de los cuales alrededor de 10,000 son o han sido producidos a escala industrial, tratando, en muchos casos, de sintetizar productos idénticos a los naturales, como el β -caroteno.

En 1987 se estimó que la producción mundial de colorantes era alrededor de 700,000 toneladas, de esta producción, aproximadamente el 50 % fue destinada a la industria textil y un 2.2 % fue destinado al sector de alimentos, medicamentos y cosméticos.

Esta proliferación en el uso de aditivos colorantes fue enseguida reconocida, como una amenaza para la salud. De particular interés fue el hecho que las sustancias conocidas de ser venenosas fueron, a menudo, incorporadas en alimentos y los tintes fueron frecuentemente usados para ocultar baja calidad y para añadir peso o consistencia a ciertos productos. Algunas de estas prácticas fueron deshonestas pero no inherentemente peligrosas.

Por ejemplo, la harina era frecuentemente coloreada de amarillo para esconder la suciedad y aparentar un alto contenido de huevo; naranjas ordinarias fueron inyectadas con tintes rojos para darle una mejor apariencia; carne vieja era coloreada para hacerla parecer fresca; conservas y jaleas fueron coloreadas para aparentar un mayor contenido de frutas.

Luego, otros usos de colorantes fueron criminales y a veces mortales. Era un hecho que poco o ningún control era aplicado sobre la pureza de los agregados a los alimentos y que colorantes encontrados insatisfactorios para textiles eran, a veces, deliberadamente canalizados en productos alimenticios. Debido al creciente interés público sobre tales prácticas, algunas mediciones fueron eventualmente tomadas por los manufactureros americanos de alimentos para control de su propia industria.

En 1900, se investigó por parte del gobierno estadounidense la relación entre materias primas colorantes y la salud, con el fin de establecer un principio para gobernar su uso y de esta manera controlar las prácticas de manufactura. Como resultado de esta investigación se encontró que muy pocos colorantes habían sido evaluados sobre sus efectos en la salud y que muchos de ellos, habían sido evaluados impropriamente. A veces, la verdadera identificación química de un colorante estudiado era desconocida. En otros casos la pureza del colorante era incierta. Más a menudo, los procedimientos usados para su análisis eran ingenuos. De esta manera, se formuló la regulación que puso fin al uso indiscriminado de materias colorantes peligrosas e impuras en alimentos. Entre otras cosas, esta nueva legislación requirió que solamente colores de composición conocida, examinados fisiológicamente y que no mostraban resultados adversos, podían ser usados.

Debido al incremento de las necesidades de la industria, durante las siguientes tres décadas, hubo un crecimiento continuo en el uso y número de aditivos colorantes. Como resultado de estos esfuerzos, se culminó con la publicación en 1940 de la declaración de servicios y regulaciones en Alimentos, Drogas y Cosméticos, la cual listaba colorantes específicos que podían ser usados junto con especificaciones y regulaciones relacionadas con su manufactura, clasificación, certificación y venta.

Debido a los serios problemas generados por el efecto de los tintes sintéticos en el medio ambiente y la salud humana, se ha renovado el interés en los colorantes naturales. El aumento de la demanda del tinte natural en la industria de tintorería, así como en la de alimentos, cosméticos y medicinas entre otras ha motivado el incremento del número de países en que se está dando el renacimiento del cultivo y producción del mismo

1.2.3 Distribución de los colorantes naturales (2)

Los colorantes naturales pueden ser clasificados, según su naturaleza química en diversos grupos. Como fuentes naturales de estos colorantes se pueden considerar las plantas superiores, las algas, hongos y líquenes, algunos insectos, así como algunos organismos marinos invertebrados.

La función de diversos pigmentos que se encuentran en forma natural en plantas y animales es muy variada, tal es el caso de algunos fenoles que absorben la luz ultravioleta y pueden desempeñar la función de guiar a los insectos a las flores para realizar la polinización. Las quinonas (compuestos fenólicos) pueden actuar como sustancias tóxicas para defensa, un caso digno de mencionar es el gusano telero (*Laetillia coccidivora* Comstock), el cual ha superado los efectos tóxicos del colorante, cuando consume el pigmento enmascara la toxina y luego la utiliza al regurgitar el pigmento sobre su agresor. (Harbone, 1985)

Aunque las funciones antes mencionadas son casos puntuales, es importante señalar que la gran diversidad de pigmentos cumple funciones específicas dentro de la naturaleza, ya que algunos pueden actuar como inhibidores para la germinación de semillas, hormonas de crecimiento, atrayentes o disuasivos.

Son muchas las plantas superiores que producen colorantes; sin embargo la concentración de estos es mínima, lo que no permite una rápida y económica extracción y en consecuencia son relativamente pocas las que tienen gran importancia comercial como fuente de colorantes.

Debido a esto, la elección de una planta con tales fines es determinada por consideraciones económicas; el material debe estar disponible en suficiente cantidad a un precio razonable, el proceso para obtener el colorante no debe ser excesivamente complejo y costoso y el producto final debe cubrir las perspectivas industriales y los requerimientos legales de los gobiernos.

Otro grupo considerado como fuente de colorantes naturales son las algas, estas deben su color a las *ficobilinas*, las cuales se clasifican en *ficocianinas* y *ficoeritrinas* de color azulado con fluorescencia roja y de color rojizo con fluorescencia naranja brillante, respectivamente. El rango de color en el que se encuentran es bastante amplio, dependiendo de la fuente de biliproteína y el medio en el cual es aislado, proporcionando así una variedad de colores naturales en las algas.

Las algas también contienen carotenoides, especialmente, β -caroteno y cetoderivados como cantaxantina, astaxantina y equinenona. Los hongos, particularmente la parte correspondiente al cuerpo fructífero, están fuertemente pigmentados. El número de pigmentos diferentes, probablemente, excede los 1000; aunque algunos son de naturaleza química común a las plantas superiores (siendo más notorio el caso de la betalainas y en menos extensión los carotenos y quinonas) muchos de ellos no han sido encontrados en algún otro organismo biológico

Los líquenes han sido intensamente utilizados para el teñido desde tiempos antiguos. Dentro de los compuestos coloreados que ellos producen están las quinonas (antraquinonas, naftoquinonas y terfenilquinonas) dibenzofuranos (ácido úsnico y derivados) xantonas, depsidos y depsidonas, carotenoides y xantófilas, así como fenoxazinas.

Entre los líquenes se pueden destacar las especies del género *Xanthoria*, cuya coloración naranja y naranja – rojizo brillante es debida a la presencia de antraquinonas y del género *Cladonia*, en los cuales los colores rojo a rojo-sangre se deben a la contribución de las naftoquinonas presentes.

Dentro de los organismos marinos invertebrados, los crustáceos y moluscos quizás son los que proveen las más diversas fuentes de colorantes, muchos de ellos aún no caracterizados y que serían de potencial interés económico.

De los insectos se destaca la cochinilla por su contenido de ácido carmínico, así como el kermés que produce ácido kermésico, ambos compuestos son de naturaleza antraquinónica. Las pterinas contribuyen a los colores blanco, crema, amarillo y rojo de muchos insectos. Por ejemplo, los colores de las mariposas y avispas son a menudo, formados de pterinas, como las xantopterinas que proporcionan un color amarillo brillante a muchas avispas; otras pterinas contribuyen también a los colores: amarillo, naranja y rojo de crustáceos, peces, anfibios y reptiles.

Las flavinas, como la riboflavina o vitamina B2, excepcionalmente, producen la pigmentación amarilla de algunos organismos marinos invertebrados.

Las fenazinas contribuyen al color de algunas bacterias, por lo general en las especies de *Pseudomonas* y *Streptomices*, mayormente amarillo y ocasionalmente azul y azul violeta.

Las fenoxazinas se han encontrado en algunas bacterias *Streptomices*, en hongos *Polyporus cinnabarimes* y en líquenes como *Rocello tinctoria* y otros que contienen orceína.

Se estima que el obtener colorantes naturales puros puede costar de 30 a 100 veces más que el producir colorantes sintéticos certificados, reduciendo con ello las posibilidades de explotación de estas fuentes naturales, sin embargo, las estrategias biotecnológicas en la producción de colorantes naturales que se han desarrollado en los últimos años son de gran importancia y podrían otorgar una serie de ventajas, entre ellas, las económicas.

1.2.4 Clasificación de colorantes naturales utilizados en el teñido de fibras (6)

Los colorantes naturales se pueden agrupar en diferentes formas: por tipo de teñido, composición química, características físicas, etc.

1.2.4.1 Características físicas

a. Colorantes directos:

Son los grupos de colorantes de antocianina, carotenoides derivados de calcona. Los colorantes son obtenidos de una solución acuosa y esta extracción se usa directamente para teñir o pintar en frío o en caliente. A veces se usa sustancias auxiliares como ácidos o sales. Como ejemplo se tiene la flor de cártamo, cúrcuma, azafrán, *cempoalxóchitl*, etc.

b. Mordentados:

Este tipo de colorantes no tienen por sí mismos el poder de entintar, sólo con un tratamiento especial de sales metálicas solubles que reaccionan sobre la fibra. Esta técnica se aplica a la mayoría de las plantas que dan color como la gardenia, *cempoalxóchitl*, rubia, cochinilla, palo de Campeche y de Brasil, etc.

c. Tipo de reducción:

Derivados del indol, estas materias colorantes se encuentran en el interior de los cuerpos vegetales o animales, pero son insolubles, para darles solubilidad, se les aplica una sustancia reductora, obteniéndose una solución incolora que se aplica a la fibra y después, mediante una oxidación aparece el color, como ejemplo está el añil.

d. Pigmentos:

Polvos de materiales minerales, son insolubles que no tienen poder de entintar, por lo cual sólo pueden utilizarse mezclándose con otro cuerpo, como el engrudo, cola, resina, caseína, clara de huevo, etc., con los que se forma una pasta para pintar.

1.2.4.2 Usos tradicionales

- a. Untado directamente sobre la fibra: se aprovecha directamente el color de la fibra.
- b. Exprimidos: el caracol púrpura (caracol de mar) da un color que aparece por oxidación con el aire.
- c. Aprovechamiento de colorantes naturales rojos de la cochinilla mediante la aplicación de mordientes y calor.
- d. Cocción de colorantes: por extracto de cocción aparecen varios tonos con el uso de mordientes, como por ejemplo, la flor de dalia.
- e. Separación del colorante: las sustancias que permiten su separación pueden ser ácidas o cenizas , como la flor de cártamo.
- f. Reducción y oxidación como el añil flora.
- g. Mordentes naturales: se sumerge la fibra previamente teñida con extractos de colorantes en agua de lago o pozo, que contenga alumbre, *tequezquite* o hierro, el color aparece con diferentes tonos según las sales minerales que lo fijan.

1.2.4.3 Características químicas

- a. Colorantes flavonoides. son cuatro grupos principales:

Tabla I. Colorantes flavonoides

GRUPO	COLOR	PROCEDENCIA
Flavonol	Amarillo	Bidens
Flavonona	Crema amarillo	Perejil
Calcona	Rojo y amarillo	Cártamo
Antocianina	Rojo y Violeta	Tinantía

- b. Colorantes carotenoides: son dos grupos principales:

Tabla II. Colorantes carotenoides

GRUPO	COLOR	PROCEDENCIA
Caroteno	Anaranjado	Zanahoria
Xantofila	Amarillo	Achiote

- c. Colorantes tipo quinona: son dos grupos:

Tabla III. Colorantes quinónicos

GRUPO	COLOR	PROCEDENCIA
Antraquinona	Rojo	Rubia Cochinilla
Naftoquinona	Violeta	Henna

- d. Derivados de indol: color azul proveniente del añil.
- e. Derivados de delfinidina: color azul proveniente de la hierba de pollo.
- f. Derivados de dihidropilano: color rojo y violeta proveniente del palo de Brasil.
- g. Grupo betaleína: color rojo proveniente del betabel.
- h. Grupo xantonas: color amarillo proveniente de algunos líquenes.
- i. Grupo tanino-pirogalol y catecol: color café proveniente del castaño.
- j. Grupo clorofila: color verde proveniente de las plantas verdes.

1.2.5 Uso artesanal de colorantes naturales en el teñido de fibras naturales (7)

En la actualidad muchas comunidades indígenas, están elaborando sus tejidos con hilos teñidos con plantas tintóreas, utilizando métodos artesanales sencillos y que les proporcionan buenos resultados.

1.2.5.1 Fibras textiles naturales

Es el material con el cual se fabrican los hilos y los tejidos. Se encuentran en la naturaleza como parte de las semillas, en los vegetales o en el pelo de los animales. Muchas fibras se encuentran disponibles en el mercado y son de origen vegetal, animal o mineral.

1.2.5.1.1 Fibras de origen vegetal

La celulosa es el alto polímero natural más extendido e importante y constituye el material de sostén de las células vegetales. Todas las fibras vegetales como el algodón, lino, yute, cáñamo y ramio, contienen un sesenta y noventa por ciento de celulosa. Asimismo, las fibras de seda artificial o rayón y la lana vegetal están formadas exclusivamente por celulosa regenerada, la cual se obtiene por disolución y precipitación de la celulosa natural.

Las fibras vegetales se clasifican en fibras de semilla como el algodón y en fibras de líber, estas últimas se subdividen en fibras de tallo como el lino y en fibras de hoja como el henequén o yute.

1.2.5.1.2 Fibras de origen animal

Las fibras proteínicas más importantes son la lana y la seda. Así como la celulosa funciona en las plantas, las proteínas serán el sostén de los organismos animales. A este grupo pertenecen la queratina (lana, pelo, plumas) y la fibroína de la seda.

La lana procede principalmente de la oveja y en menor cantidad del pelo de camello, cabra, llama y conejo. Su calidad varía con relación a la raza, alimentación y medio ambiente de las especies ovinas.

La seda es el producto de secreción del gusano *Bombyx Mori*. Esa secreción líquida se va solidificando al aire, dando finalmente una fibra enrollada de unos mil metros de longitud.

1.2.5.1.3 Fibras de origen mineral

A este grupo pertenecen las fibras de alginato, vidrio, amianto y las diversas fibras metálicas. Estas fibras son de importancia secundaria, en la industria de los textiles.

1.2.5.2 Teñido vegetal o natural

Se le llama así porque para realizarlo se utilizan sustancias vegetales colorantes y astringentes o tánicas (sustancias que estrechan y fijan colores), que se encuentran en las hojas, flores, cortezas, raíces, frutos de algunos vegetales.

Estas sustancias tienen la propiedad de insolubilizar naturalmente la gelatina en la fibra de algodón o lana, de tal manera, que la transforman en una sustancia no hidrolizante, que lo hace ser un tinte sustantivo, es decir no necesita mordiente o fijador, en cambio otras necesitan ayuda de fijador, para que el tinte se fije en la fibra.

1.2.5.3 Tintes vegetales

Actualmente se están utilizando distintas plantas para realizar el teñido de fibras. Las partes de la planta que se utilizan en el proceso de teñido, son generalmente hojas, corteza, flores, frutos, cáscaras del fruto, semillas y raíces. El hecho que se utilicen plantas, no significa que se afecte el equilibrio ecológico, la mayor parte de materia prima para tinción son desechos de las plantas, por ejemplo, del aguacate se utiliza la pepita, del coco la cáscara.

En la siguiente tabla se enlistan los nombres de algunas plantas, que se utilizan para teñir, el nombre científico y el color que proporcionan, la combinación de algunas plantas produce una coloración distinta, dependiendo la proporción de cada una de ellas. Este proceso es considerado como un arte, debido a la forma en que se combinan las plantas en el momento de teñir.

Tabla IV. Especies utilizadas en el teñido de fibras

NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	COLOR	PARTE UTILIZADA
Achiote	<i>Bixa Orellana L</i>	Naranja	Semilla
Aguacate	<i>Persea americana Mill</i>	Café	Pepita
Albahaca	<i>Ocimum basilicum L.</i>	Verde amarillento rosado pálido	Hojas Flores
Alcachofa	<i>Cynara scolymus L.</i>	Verde	Hojas
Aliso	<i>Agnus arguta</i>	Amarillo/Café	Hojas/Corteza
Añil	<i>Indigofera tinctoria</i>	Azul	Hojas y tallo
Arrayán	<i>Myrica splendens</i>	Verde, amarillo	Hojas y ramas tiernas
Banano	<i>Musa acuminata</i>	Café	Tronco o sepa
Barba de León	<i>Cuscuta corymbosa</i>	Amarillo/Naranja	Guías
Bejuco de Sangre	<i>Machoerium sp</i>	Rojo	Tallo
Berro	<i>Nasturtium officinale</i>	Verde	Hojas y tallos
Boldo	<i>Peurnus boldus</i>	Amarillo	Hojas
Buganvillea	<i>Bougainvillea glabra</i>	Rosado	Flores
Café	<i>Coffea arabica L.</i>	Café	Fruto ó cáscara/corteza
Caléndula	<i>Calendula officinalis L.</i>	Amarillo	Flores
Camotillo	<i>Curcuma Longa L.</i>	Rojo	Raíz
Canguro	<i>Rourea glabra</i>	Rojo	Raíces

Continuación

Canté	<i>Caesalpinia violacea Standl</i>	Rojo	Corteza
Caoba	<i>Swietenia macrophylla G. King</i>	Rojo	Corteza
Cebolla	<i>Allium cepa L.</i>	Amarillo	Cáscaras externas coloreadas
Cedro	<i>Cedrela mexicana</i>	Morado/Beige	Fruto/Corteza
Cereza	<i>Malpighia glabra L.</i>	Morado/Café	Fruta/Corteza
Chacahuanté	<i>Sickingia salvadorensis Standl</i>	Carmín	corteza
Chalchupa	<i>Rauvolfia tetraphylla</i>	Azul oscuro	Fruto
Chaperno	<i>Lonchocarpus rugosus</i>	Púrpura	Corteza
Chilca	<i>Thevetia peruviana</i>	Amarillo /Verde	Flor/Hojas
Cinco negritos	<i>Lantana camara</i>	Amarillo	Hojas y ramas
Cochinilla o Grana	<i>Dactylopius Coccus</i>	Rojo, Rosado	Cuerpo del insecto(hembra)
Coco	<i>Cocos nucifera</i>	Café rojizo	Cáscara
Coralillo	<i>Erythrina berteroana</i>	Amarillo	Corteza
Encino	<i>Quercus sp</i>	Café	Fruto, corteza y flor
Eucalipto	<i>Eucalyptus globulus</i>	Amarillo/verde	Hojas/corteza
Flor de Muerto	<i>Tagetes erecta L.</i>	Amarillo canario	Flores
Granada	<i>Púnica granatum</i>	Amarillo	Cáscara del Fruto
Guayaba	<i>Psidium guajava L.</i>	Amarillo/Café claro	Hojas/Corteza
Higo	<i>Ficus carica L.</i>	Amarillo	Hojas y ramas tiernas
Hinojo	<i>Foeniculum vulgare Mill</i>	Verde	Hojas y tallos
Icaco	<i>Chrysobalanus icaco</i>	Negro	Hojas/fruto
Jiquilite	<i>Justicia aurea</i>	Azul	Hojas y tallos
Lengua de vaca	<i>Curatella americana</i>	Amarillo	Hojas y raíces

Continuación

Madre de flecha	<i>Apoplansia paniculata</i>	Amarillo	Corteza
Maíz	<i>Zea mays L.</i>	Café, amarillo claro	Pelos del elote
Mangle	<i>Avicennia germinans</i>	Rojo	Corteza
Manzana rosa	<i>Syzygium jambos</i>	Café	Corteza
Mejorana	<i>Mejorana hortensis L.</i>	Verde	Hojas y flores
Nacascolo o dividivi	<i>Caesalpinia coriaria</i>	Negro	Fruto
Nance	<i>Byrsonima crassifolia</i>	Café amarillo Color encarnado Tinta verde	Corteza Cáscara Fruto verde
Nogal Negro	<i>Juglans guatemalensis</i>	Café	Carnaza del fruto
Ojo de Venado o de buey	<i>Mucuna pruriens nigra</i>	Negro	Semilla
Palo de Brasil	<i>Haematoxylon brasiletto</i>	Rojo	Corteza
Palo de Campeche	<i>Hematoxylum Campechanum</i>	Rojo a púrpura	Corteza
Palo de culebra	<i>Lafoensia punicifolia</i>	Amarillo	Corteza
Palo de Mora	<i>Chlorophora tinctoria L.</i>	Rojo/verde	Corteza
Papa	<i>Solanum tuberosum L.</i>	Violeta/azul	Cáscara
Perejil	<i>Petroselinum crispum</i>	Amarillo verde	Hojas y tallos
Pericón	<i>Tagetes lucida Cav.</i>	Verde olivo	Hojas
Pitaya	<i>Hylocereus undatus</i>	Rojo	Fruto
Recino o Higuerrillo	<i>Ricinus communis L.</i>	Marrón-caoba	Frutos secos
Romero	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>	Verde amarillento	Hojas y ramas secas
Rosa jamaica	<i>Hibiscus sabdariffa</i>	Café/rosado	Corteza/flores
Sábila	<i>Aloe vera (L.)</i>	Purpura	Hojas

Continuación

Sábila real	<i>Salvia officinalis L.</i>	Amarillo	Hojas
Sacatinta	<i>Jacobina spicigera</i>	Azul lila	Tallos y hojas
Sauco	<i>Sambucus Canadensis</i>	Lila morado	Hojas/Fruto
Subín	<i>Acacia farnesiana L</i>	Amarillo	Flores
Tamarindo	<i>Tamarindos indica L.</i>	Amarillo	Hojas, semillas
Té	<i>Camellia sinensis</i>	Verde café	Hojas
Verbena	<i>Verbena officinalis H.B.K.</i>	Amarillo	Hojas y tallos
Xilil	<i>Ardisia paschalis Donn</i>	Lila	Fruto
Zanahoria	<i>Daucus carota L.</i>	Naranja/amarillo	Fruto/tallos y hojas verdes

Fuente: datos obtenidos del Manual del Tintorero Momosteco, libro de Colorantes

Naturales de la doctora Olga Lock Sing y Diccionario de Plantas Útiles de Guatemala de Jorge Morales Alistum.

1.2.5.4 Características de algunos tintes

- a. Palo de campeche: conocido también con el nombre de Palo de tinte, hay en el sur de México y Petén, Guatemala. Su madera se emplea en tintorería para producir colores negros, azules y otras combinaciones dependiendo de las sales que se utilicen. Por infusión en agua da un bello color oscuro que mezclado con goma sirve para tinta de escribir, cocida el color se torna rojo oscuro y púrpura según la cantidad de agua que se utilice.
- b. La cochinilla o grana: es un tinte rojo que se extrae de un insecto que se da en los nopales de la tuna, se utiliza para teñir lana por los buenos resultados. Mezclado con chinchigrito se obtiene un color más oscuro. Si se mezcla con cinco negritos el color se torna más rojo vivo. Los

países donde se produce son México y Perú, en la época colonial Guatemala fue exportador de este tinte animal.

- c. Barba de león: es una planta de las llamadas parásitas, es un tinte prehispánico. Si se mezcla con zanahoria da un color anaranjado.
- d. Chinchigrito o chinchicre: los tintoreros momostecos lo usan como fijador o bien para darle otro tono de color al tinte químico, es un pequeño arbusto, existe en abundancia en la región de Momostenango.
- e. Aliso: árbol que crece en la zona de Momostenango, se utiliza la corteza, que es de color castaño rojizo. Las fibras se tiñen primero de color amarillo y luego en un segundo baño de lejía fría de cenizas y agua las fibras se tornan de color café.
- f. Nance: especie nativa de Centroamérica en bosques secos y tropicales. En Guatemala se encuentra en Alta Verapaz, el Quiché, Huehuetenango, Quetzaltenango, San Marcos. La corteza de los árboles, es dura y flexible, contiene ácido tánico, proporciona agradable color amarillo y a la vez es fijador. Se utiliza en la industria de cueros, tiñe el algodón de color café claro, la cáscara del fruto se usa para teñir hilos de algodón de color encarnado, del fruto verde se obtiene una tinta verde.
- g. Sacatinta: es el añil momosteco, los tintoreros lo conocen como raxabal y lo usan como fijador con agua de ceniza en los tintes de anilina de color negro café, especialmente en la jerga. La planta entera se utiliza para teñir fibras de color azul, combinada con agua de ceniza y una solución de índigo en polvo.

- h. La granada y nogal: se usa la carnaza del fruto. La granada es abundante en Momostenango, no así el nogal negro, pero hay en abundancia en la región de Chimaltenango.
- i. Tamarindo: se cultiva en la zona cálida de Chiquimula, El Progreso, Escuintla, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa. Las hojas producen un colorante amarillo, se usa como mordiente, el polvo de la semilla se usa en la industria textil para acabado del algodón, para curtir cueros y estabilizar ladrillos.
- j. Sábila: planta nativa del norte de África, en Guatemala se encuentra plantada en algunos lugares de la bocacosta del Pacífico, en el oriente y altiplano. Las hojas se usan para hacer fibra y barnices, se prepara un colorante que da color púrpura a la seda, negro a la lana y rosado al lino.
- k. Salvia real o salvia santa: en Guatemala se encuentra cultivada en el altiplano central, se acostumbra sembrar como planta aromática, cosmética y para artesanías, produce un colorante que da a la lana un color amarillo con un mordiente de alumbre y verde-grisáceo con un mordiente de hierro.
- l. Romero: nativo de la cuenca mediterránea del sur de Europa, se cultiva comercialmente. En Guatemala se cultiva en el altiplano central y norte del país. Las ramas frescas y secas son aromáticas, se usan para aromatizar platillos, arreglos florales. Colorea la lana de color verde amarillento.

- m. Plátano o banano común: del tronco del banano se obtiene un líquido que mancha de color negro, rico en taninos. Del banano africano que se cultiva en jardines y en lugares muy húmedos, se extrae por incisión en su tronco un color violeta muy firme. Mezclado con ácidos toma un tinte carmín, con sosa y potasa más unas gotas de ácido toma un color ocre-amarillo, con ácido tartárico, oxálico o sulfúrico da un líquido que colorea los tejidos de color rosa vivo al secarse, con la sal común se obtiene un tinte lila.
- n. Milenrama: planta nativa de Europa y Asia, adaptada a climas templados, en Guatemala se encuentra en Chimaltenango, Guatemala, Huehuetenango, Jalapa, Quetzaltenango, Suchitepéquez, Sacatepéquez, San Marcos, Sololá y Totonicapán, de las flores se obtiene un colorante que tiñe de amarillo la lana con un mordiente de alumbre, toda la planta colorea de verde olivo con un mordiente de hierro.
- o. Mejorana: nativa y muy frecuente de bosques húmedos y secos de América tropical y el Caribe. En Guatemala se le conoce con el nombre de *Origanum majorana*, una especie de la familia lamiaceae, se encuentra cultivada en Alta Verapaz, Chiquimula, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Jalapa, Jutiapa, Quetzaltenango, Retalhuleu, San Marcos, Sololá, Suchitepéquez y Zacapa. Las hojas y flores tienen uso culinario, aromático, medicinal, ornamental, cosmético y produce un colorante que tiñe de verde la lana con mordiente de alumbre y verde olivo con mordiente de cromo.
- p. Guayaba: nativa de América tropical, se encuentra en bosques húmedos y secos, en Guatemala se cultiva en todo el país, particularmente en Baja Verapaz, Chimaltenango, Chiquimula, Quetzaltenango y Totonicapán.

La fruta madura se come fresca, cocida y en jalea. La corteza es amarilla y se utiliza para curtir pieles y teñir seda y algodón.

- q. Chalchupa: nativa de México y Centroamérica, Caribe y norte de Sudamérica. En Guatemala se ha descrito en Baja Verapaz, Chimaltenango, El Progreso, Escuintla, Huehuetenango, Izabal, Jutiapa, Petén, Retalhuleu, San Marcos, Santa Rosa, Suchitepéquez y Zacapa. El fruto de este arbusto produce un colorante azul oscuro.
- r. El aguacate: se usa la pepita.
- s. Encino: se usa el fruto o bola de encino, la corteza y las flores. Tiñen de un color café oscuro de distintas tonalidades.
- t. El nance, nogal, bola de encino, sacatinta, chinchigrito y el añil: son tintes sustantivos, es decir, que no necesitan fijador o mordiente, la cualidad de estas sustancias botánicas es que son tintes y mordientes a la vez.

1.2.6 Acidez y alcalinidad de los tintes naturales

El grado de acidez o alcalinidad del baño de tinte es muy importante, ya que afecta el comportamiento que puede tener el tinte. Por lo que es necesario tener un debido control de la acidez del baño de teñido, para ello se utilizan potenciómetros o papel medidor de pH.

1.2.6.1 Ácidos suaves

Los ácidos de origen natural que pueden utilizarse en el teñido de fibras son:

- a. Limón
- b. Lima
- c. Crémor tártaro
- d. Vinagre

Debe evitarse el uso de ácidos fuertes, es decir ácidos con pH menor de 3, ya que estos afectan el proceso de teñido.

La lana, seda y otras fibras animales, se tiñen generalmente con baños ácidos. Ahora bien el algodón puede ser dañado por los ácidos fuertes por lo que se recomienda no utilizarlos. El pH se debe mantener arriba de 5 durante el teñido del algodón y luego neutralizarlo, lavándolo con un jabón neutro que tenga pH de 7.

Los jabones y detergentes, carbonato y bicarbonato de sodio son álcalis suaves. El carbonato de sodio se utiliza para ajustar el pH del baño de tinte del añil. Otros álcalis fuertes incluyen la lejía de ceniza o el hidróxido de sodio. Cuando cualquier fibra haya sido expuesta a un baño alcalino fuerte debe neutralizarse con un jabón neutro, de otra manera las fibras perderán su brillo natural y resistencia. El añil es el único tinte que necesita un pH arriba de 10.

1.2.7 Mordientes

Son sustancias químicas naturales o sintéticas que preparan la fibra para recibir el tinte, es decir, fijan el tinte para que el color no se destiña. Cuando el método de tinción que se utiliza es indirecto se agrega un mordiente. Actualmente se utilizan por su acción más enérgica, sales metálicas como la piedra de alumbre, crémor tártaro, carbonato de sodio, hierro y otros.

Los tintoreros momostecos en el proceso de teñido artesanal, utilizan también ceniza, de la cual preparan una lejía para teñir con añil, sacatinta.

Si el método utilizado en el teñido es directo en agua caliente, este se realiza con plantas que son ricas en sustancias tánicas las que actúan como mordientes naturales.

1.2.8 Taninos

El tanino es una sustancia astringente contenida en algunos vegetales, que sirve para adherirse en las fibras y que también se usa para curtir pieles. Se clasifican en fuertes y suaves; entre los taninos fuertes se tiene el encino, la granada, el nance, el aguacate y entre los taninos suaves el nogal negro y el aliso. Los taninos son también tintes al mismo tiempo de ser mordientes o fijadores.

El nombre tanino deriva del francés *TANIN* y este del germánico *TAN TANNA*. Químicamente, se define como cualquiera de los principios inmediatos vegetales, terciarios (C,H,O), de sabor astringente, que reaccionan en forma fácil con las sales de hierro originando productos de un color azul, negro o verde. (8, 9)

Por la propiedad que tienen los taninos de reaccionar en forma fácil con sales férricas, proporcionando productos de tonos muy variados, éstos han sido utilizados universalmente en la tintorería y por ende en la elaboración de tintas.

1.3 El Pericón (10,11)

Tagetes lucida Cav.

El género *Tagetes* esta compuesto de un grupo de especies aromáticas, algunas de las cuales son comúnmente llamadas **maravillas**. Además, varias especies se han establecido bien horticulturalmente, y existen registros de su cultivo y uso extensivo hecho por las tribus indias de México y Sudamérica el que se extiende más allá del tiempo de los conquistadores.

Según Kaplan (1960), Fuchs fue el primero en aplicar el nombre *Tagetes* que después fue adoptado por Linneo. Parece haber alguna evidencia que apoya la afirmación frecuente de que *Tagetes* se derivó de *Tages* el nombre de un dios etrusco.

El rango de distribución natural del género se extiende desde el suroeste de los Estados Unidos hasta Argentina, y el área de su mayor diversidad es en el Sur y Centro de México.

1.3.1 Nombres comunes

Es llamada comúnmente pericón (algunas veces hipericón); *liya* (Totonicapán), *iyá*, *jolomocox*, *ucá* (el Quiché), hierba de San Juan (Quetzaltenango) y *ey' ya'* en cackchiquel. Algunas veces es llamado periquillo en México. El nombre pericón, está bien establecido en Guatemala.

1.3.2 Distribución y hábitat natural

Es una planta originaria de Mesoamérica. Crece en su mayor parte en terrenos de gramíneas, campos abiertos, a orillas de bosques de pino y encinos, algunas veces sobre rocas secas de las laderas de los cerros.

Standley (1976), reporta su distribución entre los 1000 y 2000 metros sobre el nivel del mar, sin embargo Gohler (1992), reporta haberla encontrado hasta los 2450 metros sobre el nivel del mar.

Se distribuye desde el noroccidente de México hasta Honduras. Con base en la Flora de Guatemala (Nash y Williams, 1976), se distribuye principalmente en el altiplano central y occidental, en los departamentos de Chimaltenango, Guatemala, San Marcos, Huehuetenango, Quiché, Sacatepéquez, Jalapa y Petén, aunque en este último departamento, las condiciones climáticas necesarias para que la planta crezca a campo abierto no son las favorables.

Un estudio hecho por el Ing. Vicente Martínez, indica que la planta se encuentra en un ámbito altitudinal de 1350 a 2625 msnm, con una mayor abundancia en áreas arriba de los 1800 msnm.

La temperatura promedio anual de las regiones está entre 15 a 20 °C y la precipitación media anual de 1000 a 1500 msnm, textura del suelo arcillosa, característicos de bosques de pino. Las zonas de vida donde crece son Bosque muy húmedo montano bajo subtropical, bosque húmedo montano bajo subtropical y bosque húmedo subtropical (templado).

1.3.3 Descripción botánica (4,11)

Es una planta perenne, herbácea de base leñosa con ramas erectas que alcanzan entre 30 y 95 cm de altura, fuertemente aromática, crece a partir de una base corta gruesa y leñosa, cimosamente ramificada arriba; hojas opuestas, sesiles lineales u oblongolanceoladas, 5-10 cm de largo, obtusa o agudas en la base, finamente dentadas, con numerosas y pequeñas glándulas esparcidas; inflorescencias en cabezuelas con cimas densas o abiertas planas en la copa, involucreo cilíndrico, 9-10 mm de largo, filarios de 5-7, subulados en el ápice, con numerosas glándulas pequeñas y esparcidas; flores del radio femeninas, comúnmente 3 flabeliformes, de 3 mm de longitud, truncadas, estigma bifurcado pubescente; flores del disco perfectas de 5-7, la corola de 5-6 mm de longitud, estigma bifurcado, sin pubescencia; aquenios de 6-7 mm de longitud, estriados; papus escamoso de 5-6, dos de ellos setiformes de 3 mm de largo, los otros dos una tercera parte de longitud, oblongos, obtusos (Nash y Williams, 1976).

Figura 1. Pericón (*Tagetes lucida cav.*)



**Fuente: Cáceres- Plantas de uso medicinal en Guatemala
Dibujo basado en Midence en House y Lagos-Whitte. pp.305**

Se obtiene principalmente por recolección de la planta silvestre, los grupos que se dedican a su obtención manejan en forma rudimentaria los campos de crecimiento silvestre. Por su eficacia en el tratamiento de afecciones gastrointestinales y su potencial en el mercado de los aceites esenciales, se está promoviendo su domesticación y cultivo a nivel nacional. Su cultivo es principalmente por semilla, que germina a los 15-20 días, se trasplanta a los 2-3 meses a una distancia de 40-50 cm; florece a los 5-6 meses. La parte utilizada del Pericón son las sumidades florales en época de floración, hojas y tallos, que ocurre entre el mes de junio a septiembre, se corta por encima del suelo, se ata en ramilletes y se les deja secar al aire en un lugar oscuro a temperaturas no mayores de 35 °C, se separan las hojas y flores por aporreo. El secado reduce el peso en una relación 3.5-4:1.

1.3.4 Usos medicinales

Es una planta de uso medicinal bastante antiguo, y arraigado en algunas tradiciones populares. Se utilizan por vía oral las hojas y flores preparándolas en infusión o cocimiento, principalmente para el tratamiento de diarrea, disentería, flatulencia, parasitismo intestinal, dolor de estómago, indigestión, inflamación, náuseas, vómitos, malaria, para aliviar el parto, dolor menstrual, tratar anemia, inflamación de ojos, mordedura de escorpión, hepatitis, paludismo, etc.

Hipócrates recomendaba el Pericón como remedio antiinflamatorio y refrescante. Sebastián Kneipp recomendaba su aceite en las contusiones, dolores artrósicos, neurálgicos y procesos dolorosos. Para ello recomendaba macerar flores frescas en aceite de oliva. Se le atribuyen propiedades antiespasmódicas, antiinflamatorias, antidiarréicas, febrífugas, antisépticas, antibacterianas y digestivas diuréticas.

Es utilizado como saborizante y aromatizante en elotes y güisquiles. Para agregar al agua en el baño de niños. Es usada en rituales religiosos como incienso y se quema para ahuyentar zancudos y moscas.

Juega un papel importante en algunas creencias tradicionales, por ejemplo en el altiplano occidental de Guatemala se dice que debe ser cortada antes del 24 de junio (día de San Juan), porque después es envuelta por el demonio, de ahí uno de sus nombres comunes **Hierba de San Juan**.

1.3.5 Composición química

Las hojas y flores contienen aceite esencial (limoneno, β -ocimeno, β -cariofileno, mirceno, acetol, alilanol, esdragol (metilchavicol), éter metílico de eugenol, tagetona, dihidrotagetona, tetrahidrotagetona y linalool), alcaloides cuaternarios, flavonoides (quercetagetina, patuletina), saponinas, leucoantocianinas, ácido gálico, poliacetileno, glicósidos cianogénicos, cumarinas (dimetilalileter de 7-hidroxycumarina, 7-metoxicumarina y 6,7,8-trimetoxicumarina), derivados de tiofeno, α -tertienilo, poliacetilenos (5-(3-buten-1-inil)-2,2'-bitienol), goma, dextrina, grasas, pectina, tres resinas acídicas, taninos y sales minerales.

A principios del siglo, en 1904, el estudio de los constituyentes del Pericón comenzó con la determinación del aceite esencial, taninos y pigmentos naturales. También se encuentran resinas, en la parte aérea de la planta están presentes numerosos constituyentes polifenólicos pertenecientes a los grupos de los bioflavonoides, antraquinonas, diterpenoides y n-alcanos.

El análisis proximal de 100 g de semillas secas contiene: proteína (18-21 g) y grasa (9-11 g).

1.3.6 Farmacognosia

La materia médica son las hojas y flores secas. Según la norma guatemalteca obligatoria, la materia seca vegetal para infusión debe ser aromática, las hojas y flores estar enteras, el extracto acuoso en masa tener un máximo de 32 % y el material no contener más del 10 % de humedad.

Microscópicamente se presentan numerosas glándulas de color amarillo brillante y células de parénquima; flores enteras o fragmentos de color amarillo, liguladas, cáliz con numerosas glándulas, ovario unilocular y granos de polen equinados.

El aceite esencial tiene un agradable aroma anisado y del extracto alcohólico se obtiene una miel color café (3.33 mg/ml igual a FeCl_3 2 %), soluble en etanol, densidad 1.47 a 26 °C, concentración de 30 g/100 g de materia seca.

La actividad biológica y farmacológica se atribuye a α -tertienilo y herniarina que están presentes en las hojas y flores. El α -tertienilo es un cristal amarillo, peso molecular 248, punto de fusión 93-94 °C, soluble en éter, acetona y etanol, insoluble en agua; presenta actividad antimicrobiana.

La herniarina(7-metoxicumarina) es un cristal blanco-amarillo, peso molecular 176, con actividad antibacteriana, espasmolítica, diurética y antiinflamatoria.

1.3.7 Toxicología

Popularmente se le atribuye propiedad abortiva. La DL_{50} de los extractos con actividad espasmolítica por vía oral es mayor de 100 mg/kg de peso. El extracto alcohólico provoca en algunas personas síntomas cardiovasculares.

El α -tertienilo puede ser fototóxico en presencia de luz ultravioleta cercana y producir una fotodermatitis por un mecanismo que no depende de la peroxidación lipídica de la membrana.

1.3.8 Características fisicoquímicas del aceite esencial de pericón (*Tagetes lucida Cav.*)

Aspecto:	líquido aceitoso a 26 °C
Color:	amarillo, equivalente a una solución 1.77 % de FeCl ₃
Densidad:	0.9718 g/cm ³ a 26 °C.
Punto de ebullición:	233 °C a 1 atm.
Solubilidad:	soluble en etanol al 95 %, cloroformo y acetona.
Concentración:	0.9718 g/10 g de masa seca
Índice de refracción:	1.5322 a 26 °C (refractómetro ABBE)

1.4 Pigmentos naturales flavonoides (2,3)

Los flavonoides son pigmentos vegetales que poseen un esqueleto carbonado C₆-C₃-C₆, es uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales, conocidos algunas veces como antoxantinas.

Estos compuestos tienen como características generales su solubilidad en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistemas aromáticos y conjugados. Por regla general son insolubles en éter de petróleo, lo que permite desengrasar un material antes de extraerlos. Para realizar una clasificación preliminar se puede hacer un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color, seguidamente se hace un examen cromatográfico del extracto, y la identificación de los componentes individuales por comparaciones cromatográficas y espectroscópicas con compuestos estándar o con la literatura.

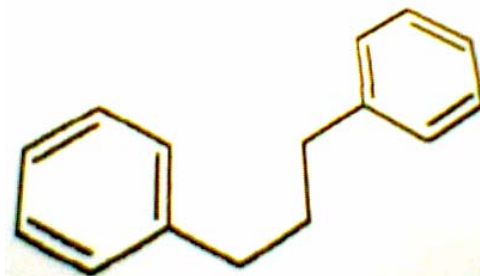
Los flavonoides se emplearon durante mucho tiempo como colorantes de lana, y actualmente se usan en la conservación de grasas o jugos de frutas debido a las propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. Entre otras aplicaciones están la de los glucósidos de dihidrochalconas como edulcorantes, de la rotenona como insecticida, etc.

De acuerdo con el libro de Colorantes Naturales de la doctora Olga Lock , hasta 1990 se conocían alrededor de 3000 flavonoides, entre ellos 450 flavonoles, 300 flavonas, 150 isoflavonas, 60 chalconas, 20 auronas, etc., los que encuentran extensamente distribuidos entre las plantas, tanto libres o como glicósidos; estos últimos contribuyen a darle color a las flores, frutos y hojas.

1.4.1 Estructura

Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico y están arreglados bajo un sistema $C_6-C_3-C_6$, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C.

Figura 2. Estructura básica de los flavonoides



Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa.

Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glicósidos; en muchos casos, debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el estudio de estos compuestos bajo la forma de agliconas para lo cual los extractos deben hidrolizarse previamente.

1.4.2 Extracción y técnicas de identificación

Los solventes empleados en la extracción de flavonoides son muy variados y pueden ser desde muy polares como el agua y etanol para glicósidos o agliconas muy hidroxiladas, hasta menos polares como éter y cloroformo para flavonas altamente metoxiladas. Es recomendable emplear una sucesión de dos o más solventes, usualmente en el orden lipofílico; por ejemplo: éter de petróleo, benceno, éter etílico, acetato de etilo, alcoholes y finalmente agua, aunque con el agua se presenta la desventaja de su alto punto de ebullición y presión de vapor que dificultan luego el ser removida rápida y completamente del extracto; por otro lado, podrían ser extraídos otros compuesto de alto peso molecular que usualmente interfieren en las subsiguientes etapas de purificación del flavonoide.

La extracción de compuestos colorantes de las plantas se pueden realizar por distintos métodos: la infusión o decocción que es la técnica más popular, consiste en una extracción en agua de la planta fresca o seca con ayuda de calor, o en alcohol (tintura, vino), en algunos casos se usa la planta machacada, como cataplasma, jugo o polvo de la planta seca administrada directamente.

La extracción para tamizaje se realiza con una extracción por maceración a temperatura ambiente con uno a tres solventes con diferentes polaridades, generalmente diclorometano o hexano, éter o etanol y agua. Los extractos se concentran, evaporando los solventes a presión reducida y temperatura controlada (rotavapor) hasta alcanzar un estado de miel. Con los extractos acuosos se concentran por medio de liofilización. De esta forma los extractos son más estables y fáciles de almacenar y dosificar.

La extracción para elucidación estructural consiste en una maceración o extracción Soxhlet usando inicialmente un solvente de amplio espectro (metanol o etanol) y luego un fraccionamiento con diferentes solventes o mezclas de solventes que permiten separar las diferentes fracciones por partición. Idealmente el fraccionamiento debe ser guiado por un bioensayo que permita llegar a la estructura química responsable de la actividad en un tiempo relativamente corto. (12)

Los flavonoides se pueden extraer por los siguientes métodos:

- a. Extracción con metanol y cromatografía: se realiza una extracción con metanol en frío, el extracto se seca en presencia de policaprolactama (nylon) pulverizada. El residuo es lavado con cloroformo, después con agua y finalmente con metanol.

Todos los flavonoides se van en el metanol. La solución metanólica se evapora y el residuo se percola por una columna cromatográfica empacada con gel de sílice. El componente principal se eluye con acetato de etilo y se cristaliza en metanol-agua. Este procedimiento se utilizó para estudiar la parte aérea de *Oeothera lavandulaefolina*, obteniéndose cristales anaranjados de p.f. 198-201 °C (peso 0.380 g).

- b. Extracción con etanol y separación con borax: para obtener kaemferol de los pétalos de rosas amarillas se utiliza etanol caliente. El extracto se evapora a presión reducida. El residuo se extrae varias veces con éter de petróleo y después se hierve con una solución acuosa o etanólica de ácido sulfúrico (al 7 %) durante 2 horas. La suspensión enfriada se extrae varias veces con éter etílico. Se juntan los extractos y se extraen con una solución acuosa de 10 % de bórax, el cual disuelve la quercetina, p.f. 312 °C, que se recupera al añadirle un ácido. Al destilar el éter queda kaemferol, p.f. 275 °C como residuo.
- c. Extracción y separación con sales de plomo: con pétalos secos y molidos, de flor de jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*), se extraen con etanol. El etanol se destila a presión reducida y el residuo se extrae con éter de petróleo, para quitarle lípidos y carotenoides. En seguida se extrae con éter etílico y finalmente el residuo mezclado con un poco de etanol se deja en el refrigerador varios días para que se separe la hibiscitrina, la cual se recristaliza en etanol diluido, cristales amarillos, p.f. 238-240 °C. El filtrado obtenido se diluye con agua, se trata con suficiente acetato de plomo para precipitar los flavonoides. El precipitado se filtra, se suspende en etanol y se descompone burbujeando ácido sulfhídrico. Se filtra el sulfuro de plomo, y el filtrado se calienta para eliminar el exceso de ácido sulfhídrico. En seguida se evapora a presión reducida.

El residuo siruposo se macera con éter etílico anhidro. El sólido amarillo formado se cristaliza en etanol; se obtienen prismas amarillentos de gositrina, p.f. 181 °C.

- d. Extracción con etanol: hojas y tallos de apio triturados se mezclan con etanol. El extracto se concentra a presión reducida y se filtra en caliente sobre un poco de carbón activado. Al enfriarse forma una pasta gelatinosa que se separa de los licores madres. La masa gelatinosa se extrae en frío con éter para eliminar la clorofila, luego se extrae varias veces con acetona helada. La porción insoluble (apiina cruda) se disuelve en agua caliente y se pone a hervir, se le añade, gota a gota, una solución de acetato neutro de plomo hasta que no se forme más precipitado, la suspensión se filtra en caliente. El precipitado se descarta y al filtrado se le añade, poco a poco, una solución de acetato básico de plomo hasta que no se forme más precipitado, éste se recoge por filtración. El precipitado de plomo se suspende en etanol y se le burbujea exceso de ácido sulfhídrico. Se filtra la suspensión. El filtrado se hierve para eliminar el exceso de ácido sulfhídrico y después se concentra. El concentrado se deja reposar en un lugar frío y se separan los cristales, los cuales se recristalizan en etanol dando agujas incoloras de apiina, p.f. 230-232 °C. (6)

Los métodos anteriores son para extractos específicos, generalmente los flavonoides se pueden extraer con etanol al 70 % o metanol al 80 %, sin embargo se debe tomar en cuenta que el método de extracción depende de la textura y contenido de agua en la planta, así como de la sustancia a extraer.

Para la identificación de flavonoides se utilizan varias reacciones coloridas, la más usual es la reacción de Shinoda.

- a. Reacción de Shinoda: al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le coloca un pequeño trozo de magnesio y unas pocas gotas de HCl concentrado el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanoles (rojo a magenta) flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo), isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración.
- b. Reacción con H_2SO_4 conc. : las flavonas y flavonoles dan coloraciones fuertemente amarillas, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo guinda o rojo azulado.
- c. Reacción con álcalis: los extractos acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flavonas, flavanoles e isoflavonas se ponen amarillas; flavanonas y flavonoles cambian de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo.
- d. Prueba de Marini Bettolo: con solución de SbCl_5 en CCl_4 , los flavonoides en general dan colores característicos o formación de precipitados; por ejemplo, las flavonas dan precipitados amarillo o anaranjado, y las chalconas, rojo oscuro o violeta.
- e. Reactivo de Dimroth: solución de H_3BO_3 en Ac_2O , las 5-hidroxi flavonas dan soluciones anaranjadas o rojas.

- f. Reacción con solución acuosa o etanólica de FeCl_3 : aunque hay coloración en presencia de cualquier compuesto fenólico, la aparición de un color verde sugiere la presencia de un derivado de catecol y de un color azul de un derivado de pirogalol.

1.5 Equipo de extracción

Para la extracción de sólidos se dispone a nivel de laboratorio de aparatos simples para la extracción semicontinua, que utilizan una mínima cantidad de solvente con el máximo de rendimiento en la extracción y la recuperación del solvente.

El extractor clásico de este tipo es el aparato de Soxhlet, es un aparato semicontinuo, pues en una de las fases (el sustrato) se agrega sólo al principio, mientras que el solvente cumple un ciclo de extracción-purificación continuo. La purificación se realiza en forma paralela, por destilación, de tal manera que el sustrato siempre se contacta con solvente puro. El aparato consta de tres partes principales: el matraz, la cámara de extracción y el refrigerante de reflujo. (Ver apéndice B, figura 19, pág. 106)

El matraz inferior contiene el solvente, que por calor se evapora. La cámara de extracción en su parte inferior tiene un tubo estrecho doblado en U que funciona como sifón. En la cámara de extracción se introduce la sustancia-problema, dentro de un cartucho de papel filtro o en una bolsita de tela tupida.

Los vapores llegan al refrigerante que los condensa y el líquido cae en gotas sobre la sustancia-problema. Cuando el condensado alcanza la altura del sifón refluye al matraz, cargado de principios extraídos.

Se continúa así hasta un número calculado de horas, lo suficiente para agotar el material, es decir, que el líquido pase incoloro por el tubo-sifón.

Es útil en escala laboratorio, porque, si bien la eficiencia de extracción no es muy alta, la regeneración del solvente se produce automáticamente con lo cual se evita el excesivo manipuleo de la extracción discontinua en sucesivas etapas.

1.6 Cromatografía

La cromatografía es una técnica de separación basada en la diferencia de velocidad con que se mueven los solutos a través de un medio estacionario mediante el flujo en un disolvente llamado eluente.

1.6.1 Clasificación de la cromatografía

La cromatografía se clasifica en: cromatografía de reparto, cromatografía de adsorción, cromatografía de exclusión, cromatografía de permeación y cromatografía de intercambio iónico.

1.6.1.1 Cromatografía de reparto

La separación de una mezcla de solutos es función de la distribución de las moléculas de estos entre una fase estacionaria líquida, soportada sobre un sólido, y la fase móvil o eluente del sistema.

La fase móvil puede ser un líquido o un gas según sea el caso de la cromatografía; en caso de que la cromatografía sea líquida-líquida la fase móvil será un líquido, o de un gas en cuyo caso es cromatografía gas-líquido.

Si el soluto A se disuelve en B y C, la distribución entre ellos está dada por la ecuación:

$$\text{Coeficiente de reparto} = (\text{concentración de A en B})/(\text{concentración de A en C})$$

La temperatura a la que el coeficiente de reparto se determina es constante.

Cromatografía líquido-líquido: se lleva a cabo principalmente en celulosa y gel de sílice húmeda, el agua se comporta como soporte por lo que se emplea para separar sustancias acuosolubles, se puede realizar en papel, columna o capa fina, la fase estacionaria está constituida por la parte individual de cada fibra.

Cromatografía gas-líquido: se elige la fase estacionaria que presente una estructura análoga a una de las sustancias que presente la mezcla. Se crea una película muy fina para facilitar el reparto, esta capa debe poseer baja volatilidad sobre el soporte sólido y de esta forma aumentar la superficie interfacial entre el gas y el líquido tanto como sea posible.

1.6.1.2 Cromatografía de adsorción

La adsorción se manifiesta por un aumento de la concentración del soluto en la interfase que rodea el medio estacionario. La separación está basada en las diferencias en el comportamiento, adsorción, desorción de sustancias contenidas en las fases móvil sobre un sólido estacionario y pueden ser sistemas líquido-sólido y gas-sólido. Se deben tomar en cuenta tres variables que influyen en el proceso de adsorción: adsorbente, eluyente y solutos. El término adsorción en términos cromatográficos se refiere a interacciones débiles.

Cromatografía líquido-sólido: la fase estacionaria suele ser gel de sílice, alúmina, carbón activado y polvo poliamida. Algunas veces al aplicar alúmina pueden ocurrir cambios químicos, es decir, quimisorción durante el paso del soluto por la fase estacionaria.

Cromatografía gas-sólido: los adsorbentes más usados son alúmina, gel de sílice, carbón activado y mallas moleculares. Se realizan en columna, el material que se utiliza como adsorbente debe presentar una estructura rígida, tamaño uniforme y ser químicamente inerte.

1.6.1.3 Cromatografía de exclusión

La separación está basada en los diferentes volúmenes moleculares de los solutos. El tiempo de elución es proporcional al peso molecular de los mismos, lo que da como resultado que no sea muy usada con compuestos de alto peso molecular. En este proceso principalmente, se emplean geles no iónicos de partículas uniformes y porosos como fase estacionaria

Cromatografía de filtración: se emplean geles de filtración como el sephadex, que es un polímero de dextrano. El eluente empleado es agua o soluciones amortiguadoras, los geles aumentan su volumen cuando se ponen en contacto con el eluente e impiden el paso de moléculas de gran tamaño a través de sus poros, y por eso se separan primero.

1.6.1.4 Cromatografía de permeación

Se emplean polímeros que se disuelven en solventes orgánicos como fase estacionaria.

1.6.1.5 Cromatografía de intercambio iónico

Se lleva a cabo con materiales especiales de estructura porosa e insoluble los cuales contienen grupos reactivos que están asociados a iones hábiles capaces de intercambiarse con otros iones presentes en el medio que los rodea. Se emplea en separaciones de sustancias iónicas, tanto orgánicas como inorgánicas.

1.6.2 Cromatografía de capa fina

La cromatografía en capa fina es una herramienta importante en la identificación de colorantes naturales. Se realiza por medio de placas cromatográficas, una fase estacionaria y una fase móvil móvil.

1.6.2.1 Proceso de adsorción

La muestra aplicada en la capa es adsorbida en la superficie del material por la acción de fuerzas electrostáticas (fuerzas de Van der Waals, puentes de Hidrógeno, efectos inductivos, etc.). Luego, cuando la capa es expuesta a un flujo por acción capilar se inicia una competencia de enlaces entre los sitios activos del adsorbente y la sustancia con el solvente.

1.6.2.2 Fase estacionaria (adsorbentes)

El adsorbente o adsorbente, (en algunos casos) más utilizados son: Gel de sílice, que funciona a menudo como soporte para el agua u otros disolventes polares en las separaciones líquido-líquido. Sin embargo, si se seca en un horno la capa del gel de sílice después de preparada, ésta pierde la mayor parte de la humedad y su superficie resulta predominantemente sólida de modo que sirve como adsorbente para separaciones líquido-sólido, se debe tener cuidado para evitar exponer la superficie a la atmósfera, ya que la absorción de la humedad del aire se da en pocos minutos.

Oxido de Aluminio o alúmina (ácida, neutra o básica), tierra silícea o Kieselguhr, celulosa (nativa o micro-cristalina), poliamidas, son otros de los adsorbentes utilizados en los procesos de cromatografía en capa fina.

Estos adsorbentes deben tener ciertas características: tamaño de partícula, volumen de poro, diámetro de poro, área superficial, homogeneidad, pureza.

1.6.2.3 Preparación de las placas para cromatografía

Las placas para cromatografía en capa fina, pueden prepararse distribuyendo una pasta acuosa del sólido finamente dividido sobre la superficie limpia de una placa de vidrio o de mylar, o un portaobjetos de microscopio. Por lo general, se agrega una sustancia adhesiva a la mezcla para mejorar la adhesión de las partículas sólidas entre sí y con el vidrio. Se deja entonces la placa en reposo hasta que la capa se asienta y se adhiera intensamente a su superficie; en algunos casos puede calentarse en un horno durante varias horas.

La limpieza de las separaciones en la técnica de capa fina depende de la existencia de partículas con un estrecho intervalo de tamaño y de una capa de grosor uniforme.

Se usan como soporte del adsorbente láminas de vidrio, plástico o metálicos, como el aluminio. Los tamaños de la placa para TLC convencional son: 20 cm x 20 cm; 10 cm x 20 cm y 5 cm x 2 cm.

Hay placas que contienen un indicador de fluorescencia: F_{254} ó F_{366} . El número que aparece como subíndice indica la longitud de onda de excitación del indicador utilizado.

1.6.2.4 Aplicación de la muestra

La muestra se aplica en la capa según el objetivo: banda, punto o mancha. Se coloca una gota de la muestra cerca del extremo de la placa y se marca su posición con un lápiz.

1.6.2.5 Desarrollo de la placa

Es un proceso mediante el cual los compuestos son transportados a través de la fase estacionaria por la fase móvil.

Después de colocar la gota de muestra se evapora el disolvente de la muestra, se coloca la placa en un recipiente cerrado saturado con los vapores del disolvente utilizado para el desarrollo. Se moja un extremo de la placa con el disolvente, teniéndose cuidado de no mojar la muestra. Después de que el disolvente ha recorrido la longitud de la placa, ésta se retira y se seca; la posición de los componentes se determina por diferentes medios.

1.6.2.6 Cámaras para desarrollo

Existen varios tipos de cámaras:

- Normal
- Doble compartimiento
- *Sándwich*
- Horizontal
- Vario KS
- U
- Detección o visualización

Dependiendo del tipo de cámara la dirección del flujo puede ser, flujo ascendente, flujo descendente y flujo horizontal.

1.6.2.7 Identificación de la especie

Si la muestra no es coloreada se requiere de métodos que permitan visualizar el (los) componente(s) presentes. Este procedimiento se conoce también como revelado.

Los métodos son:

- Químicos (por inmersión). Se obtienen derivados coloreados o fluorescentes.
- Físicos (ópticos). Se utiliza radiación UV

Dos métodos comunes, que pueden aplicarse a la mayoría de las mezclas orgánicas, consisten en rociar con soluciones de yodo o ácido sulfúrico; ambos reaccionan con los compuestos orgánicos para dar productos de reacción de color oscuro. También se utilizan reactivos específicos como la ninhidrina, para localizar especies determinadas; se puede incorporar un material fluorescente a la fase estacionaria. Las sustancias fluorescentes se pueden detectar con una lámpara ultravioleta.

Después del desarrollo, se examina la placa con luz ultravioleta. En este caso, toda la placa presenta fluorescencia, excepto en los sitios donde se localizan los componentes no fluorescentes de la muestra.

1.6.2.8 Evaluación de un cromatograma de capa fina

La evaluación puede realizarse por los siguientes métodos:

a. Análisis cualitativo

- Medida de R_f
- Comparación visual de color/intensidad
- Propiedades UV/IR/MS/NMR

b. Análisis semi-cuantitativo

Se puede lograr una estimación semicuantitativa de la cantidad presente de un componente realizando una comparación visual del diámetro y la intensidad del color de la mancha contra una serie de manchas patrones de concentración conocida. Se puede obtener mejores datos rascando la mancha de la placa, extrayendo el analito de la fase sólida y midiendo su concentración por medio de un método químico o físico adecuado.

c. Análisis cuantitativo

- Indirecta
- Directa
- Densitometría, se utiliza un densitómetro de barrido para medir la radiación emitida por una mancha por fluorescencia o reflexión.
- Medida de transmisión, medida de luz transmitida a través de la sustancia.
- Medida de emisión, medida de luz reflejada desde la sustancia.
- Espectrofotometría.
- Fluorescencia.
- Florescencia con *quenching*.(20)

2. METODOLOGÍA

2.1 Localización

Laboratorio de la sección de Química Industrial del Centro de Investigaciones de Ingeniería de la Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, en donde se realizaron las actividades de secado, molienda de la materia prima y extracción de aceite esencial crudo y colorante natural.

El procedimiento de cromatografía y espectro en la región visible se realizó en el laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPRONAT) de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

2.2 Recursos humanos

Investigadora: MEPU Claudia Maribel Ac Santa Cruz

Asesora: Inga. Qca. Telma Maricela Cano Morales

Revisor: Ing. Qco. José Eduardo Calderón García

2.3 Recursos materiales

Materia prima: hojas secas de la planta, secadas a temperaturas menores de 35°C,

Cristalería: micro pipetas, balones, erlenmeyer, ampolla de decantación, varillas de agitación, embudo, probetas graduadas, perlas de vidrio, magnetos, frascos opacos, codos.

Equipo: secador de bandejas, plancha de calentamiento, bomba de vacío, balanza, refrigeradora, rotavapor, espectrofotómetro UV, Neoclevenger, placas cromatograficas, Soxhlet, vortex.

Reactivos: metanol, etanol, acetona, éter etílico, limaduras de magnesio, HCl conc., ácido sulfúrico, acetato de etilo, ácido fórmico, ácido acético glacial, soluciones estándar de hiperosido, rutina, quercitina, naringenina y ácido clorogénico, difenilboriloexietilamina y polietilenglicol 4000, hexano, agua destilada.

Otros: papel aluminio, tapones de hule, soportes de metal, mangueras, anillo, toalla, papel parafilm, papel mayordomo.

2.4 Diseño de tratamientos y manejo del experimento

Para la extracción de aceite esencial se utilizó una muestra de 100 gramos de materia seca y triturada, se realizó la extracción durante 2 horas, manteniendo constante la cantidad de materia y el tiempo, se hicieron nueve extracciones.

En el estudio de colorante natural, se evaluó el porcentaje de colorante contenido en el pericón (*Tagetes lucida Cav.*), obtenido del residuo seco de la planta, triturado a un tamiz Num. 4 (escala Tyler, 4.699 mm de diámetro utilizando el método de extracción con Soxhlet, con tres solventes diferentes (acetona, metanol, etanol) realizando tres repeticiones con cada solvente.

El diseño experimental será de 1 especie * 3 solventes = 3 tratamientos con 3 repeticiones cada uno. Utilizando para evaluar un arreglo combinatorio al azar. Donde la respuesta que se observará en cada uno de los “a” tratamientos es una variable aleatoria.

El análisis se realizó de la siguiente manera:

a = especie a analizar

i = 1,...,a

b = 3 solventes utilizados en la extracción

j = 1,...,b

n = 3 repeticiones

k = 1,...,n

a*b*n= número de unidades experimentales

La variable que se desea medir en este procedimiento es:

*El rendimiento de extracto de colorante en gramos, obtenidos del pericón utilizando tres solventes para la extracción.

Como solo se desea comparar los tratamientos de un factor único se utilizó un análisis de varianza. Los datos aparecen como:

Tabla V. Análisis de varianza

TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	TOTALES	PROMEDIOS
1	$Y_{11}, Y_{12} \dots Y_{1n}$	Y_1	Y_1
2	$Y_{21}, Y_{22} \dots Y_{2n}$	Y_2	Y_2
:	:	:	:
:	:	:	:
B	$Y_{b1}, Y_{b2}, \dots Y_{bn}$	Y_b	Y_b

MODELO LINEAL

$$y_j = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

$$i = 1, 2, \dots, b$$

$$j = 1, 2, \dots, n$$

y_{ij} = ij-ésima observación del tratamiento i

μ = es el parámetro común a todos los tratamientos denominado media global.

τ_i = es un parámetro único para el i-ésimo tratamiento llamado efecto del tratamiento i-ésimo .

ε_{ij} = es la componente aleatoria del error

Para probar la hipótesis se supone que los errores del modelo son variables aleatorias independientes, con distribución normal, con media cero y variancia σ^2 . Se supone que ésta última es constante para todos los niveles del factor.

Este modelo se denomina análisis de variancia de clasificación en un sentido porque solo investiga un factor.

2.4.1 Metodología experimental

Para la realización de la parte experimental se utilizan dos métodos, uno para la extracción de aceite esencial y otro para la extracción de colorante natural, seguidamente se realizan pruebas físicas cualitativas, análisis cromatográfico y espectro de absorción.

2.4.1.1 Extracción de aceite esencial

Para realizar la extracción de aceite esencial, se tritura el material seco, luego se utiliza el método de extracción por arrastre con vapor en caldillo a nivel de laboratorio.

El método de extracción por arrastre con vapor en caldillo consiste en introducir la materia vegetal seca en un balón, luego se humedece y se arma el equipo Neoclevenger. La separación del aceite esencial de la materia vegetal húmeda se realiza por arrastre con vapor, se recoge el destilado en un tubo graduado donde la fase acuosa es automáticamente separada de la fase oleosa y es devuelta al balón de extracción. Cuando el aceite esencial tiene densidad próxima a la densidad del agua se debe adicionar en el tubo graduado una cantidad previamente medida de solvente de baja densidad y punto de ebullición adecuado, en este caso n-hexano, lo que permite disolver el aceite esencial. Para separar el aceite del solvente se debe rotavaporar. (Ver figura 18 y 20, apéndice B, pág. 105-106)

2.4.1.2 Extracción de colorante

Para realizar la extracción de colorante se secó el desecho sólido de materia prima obtenido de la extracción de aceite esencial crudo de pericón, a una temperatura no mayor de 40 °C, hasta que la muestra presentó peso constante.

Se utilizó una muestra de 10 g de material seco de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*) con una aproximación de 0.0005 g, se introdujo en un dedal de celulosa, éste se colocó en la cámara de extracción y luego se armó el equipo Soxhlet, se agregó el solvente, se aplicó calor con una plancha de calentamiento y se inició la extracción hasta agotamiento, se utilizaron tres solventes diferentes: metanol, etanol, acetona con tres corridas por cada solvente. (Ver figura 19, apéndice B, pág. 106)

Luego de obtener los extractos, el solvente se concentró a presión reducida en un rotavapor, a temperatura no mayor de 40 °C y girando a una velocidad constante. El tiempo de extracción de solvente es continuo, hasta que la muestra no tenga presencia de solvente. El residuo obtenido contiene extracto de colorante, el que es almacenado en viales debidamente identificados y a temperaturas bajas (en refrigeración).

Después de obtener los extractos se le realizaron pruebas físicas y químicas, por medio de técnicas de identificación de flavonoides, cromatografía en capa fina, espectro UV.

2.4.2 Identificación de flavonoides

Para identificar flavonoides se utilizaron pruebas colorimétricas, cromatografía en capa fina y espectro de absorción

2.4.2.1 Reacciones coloridas

- a. Reacción de Shinoda: al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le coloca un pequeño trozo de magnesio y unas pocas gotas de HCl concentrado el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanoles (rojo a magenta) flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo), isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración. (Ver tabla X, sección resultados, pág. 82)

- b. Reacción con H_2SO_4 conc. : a la muestra se le agrega una gota de ácido y se observa si hay cambio de color: las flavonas y flavonoles dan coloraciones fuertemente amarillas, las flavanonas, anaranjadas o guindas; las chalconas y auronas, rojo guinda o rojo azulado. (Ver tabla XI, sección resultados, pág. 83)

2.4.3 Análisis cromatográfico en capa fina

Para realizar el análisis cromatográfico se utilizó la técnica de capa fina, para realizar este análisis se deben preparar varias fases.

2.4.3.1 Preparación de la muestra

Se prepararan las muestras colocando en un tubo de ensayo 100 mg de extracto en 1 ml de metanol. La solución se somete a fuerte agitación, en un vortex. Se filtran las soluciones y el filtrado se coloca en un tubo de ensayo con tapón.

2.4.3.2 Preparación de las soluciones estándar

En un beaker se colocan 5 mg del estándar a utilizar y se mezclan con 10 ml de metanol., se agita para homogenizar la solución. Estas soluciones deben ser guardadas en recipientes cerrados y debidamente identificados.

2.4.3.3 Preparación de la fase móvil

En un beaker mezclar 50 ml de acetato de etilo, 5.5 ml de ácido fórmico, 5.5 ml de ácido acético glacial y 13.5 ml de agua. (la mezcla debe estar siempre tapada para evitar evaporación). Se agita durante 5 minutos con un agitador magnético, luego se traslada la mezcla a la cámara cromatográfica la cual debe permanecer tapada.

2.4.3.4 Preparación de la placa cromatográfica

Se corta una placa de 10 cm x 18 cm de un cromatofolio de aluminio de sílice gel 60F₂₅₄ y se realiza lo siguiente:

1. Trazar con lápiz, una línea horizontal un centímetro arriba de la parte inferior de la placa.
2. Marcar a lo largo de la línea horizontal 17 puntos, dejando 1 cm de separación entre cada uno.
3. Inyectar con ayuda de un capilar 5 μ l de cada solución preparada (muestra + metanol), en cada punto. Hacer lo mismo con las soluciones estándar. Debe tenerse cuidado de que la mancha sea lo más pequeña posible.

2.4.3.5 Desarrollo de la placa cromatográfica

Se coloca la placa dentro de la cámara cromatográfica que contiene la fase móvil, se deja que las líneas que aparecen, lleguen a una distancia de 2 cm abajo del borde superior de la placa. Se retira la placa y se coloca en la campana de extracción, para que seque la fase móvil, si es necesario se rocía la placa con solución reveladora, luego se observa la placa con una lámpara ultravioleta. (Ver figura 23, apéndice B, pág. 108)

2.4.3.6 Preparación de las soluciones reveladoras

A la placa se le aplica un revelador para que se observen de mejor manera los colores que se forman en la placa al introducirla a una cámara de luz ultravioleta, este revelador se prepara con:

- Difenilboriloexietilamina en 1 % de metanol: se pesa 0.2 g de NP y se mezcla con 20 ml de metanol.

- Polietilenglicol 4000 en 5 % de etanol: se pesa 1 g de PEG y se mezcla con 20 ml de etanol.

Luego de preparar las soluciones se debe rociar la placa con cierta cantidad de cada solución reveladora.

Se observa con luz ultravioleta los puntos que coinciden con los puntos de las soluciones estándar, identificando de esta manera la presencia de colorantes del tipo flavonoides. (Ver figura 24, apéndice B, pág. 108)

2.4.4 Espectrofotometría UV

Para obtener las gráficas de espectro de absorción se deben preparar diferentes soluciones y por medio de un espectrofotómetro UV se obtienen los picos representativos

2.4.4.1 Preparación de las soluciones

Pesar 25 mg de cada muestra colocarlos en un tubo de ensayo. Mezclar con una cantidad de metanol y homogenizar la mezcla, trasladar la mezcla a un balón aforado de 25 ml y aforar con más metanol.

2.4.4.2 Obtención de los espectros

Las soluciones fueron analizadas en un espectrofotómetro UV, donde se obtuvieron graficas que muestran la relación entre absorbancia vrs. longitud de onda (nm).

3. RESULTADOS

3.1 Gramos de aceite esencial crudo obtenidos

En la siguiente tabla, los datos se expresan en gramos de aceite esencial crudo/100 g de masa seca.

Tabla VI. Gramos de aceite esencial crudo

Repetición	Aceite esencial crudo (g)
1	0.139
2	0.124
3	0.292
4	0.367
5	0.263
6	0.314
7	0.307
8	0.321
9	0.337

3.2 Rendimiento de aceite esencial crudo

Los siguientes datos se encuentran expresados en porcentajes en masa.

Tabla VII. Rendimiento porcentual de aceite esencial crudo

Repetición	% en masa de Aceite
1	0.139
2	0.124
3	0.292
4	0.367
5	0.263
6	0.314
7	0.307
8	0.321
9	0.337

3.3 Media total (x) del rendimiento de aceite esencial crudo de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*).

$$x = 0.2738 \%$$

3.4 Gramos de extracto de colorante natural obtenidos

Los siguientes datos se encuentran expresados en gramos de extracto de colorante natural obtenido/10 gramos de masa seca.

Tabla VIII. Gramos de extracto de colorante natural

Repetición	Colorante (g)
S ₁ R ₁	1.139
S ₁ R ₂	1.318
S ₁ R ₃	0.764
S ₂ R ₁	0.691
S ₂ R ₂	2.863
S ₂ R ₃	0.930
S ₃ R ₁	1.258
S ₃ R ₂	0.972
S ₃ R ₃	0.755

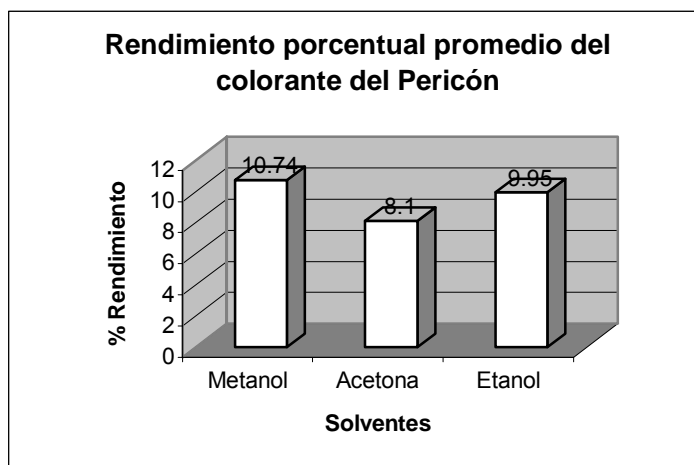
3.5 Rendimientos porcentuales

Tabla IX. Rendimiento porcentual de extracto de colorante de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*)

REPETICIÓN	S ₁	S ₂	S ₃
1	1.139	0.691	1.258
2	1.318	2.863	0.972
3	0.764	0.930	0.755

3.6 Rendimiento porcentual promedio

Figura 3. Gráfica del rendimiento porcentual promedio de extractos de colorante natural del Pericón (*Tagetes lucida Cav.*)



3.7 Pruebas Colorimétricas

Tabla X. Resultados de las pruebas de Reacción de Shinoda

Solvente	Repetición	Cambio de color	Tipo de flavonoide
S ₁	R ₁	Amarillo a rojizo amarillento	Flavonas
	R ₂	Amarillo a rojizo amarillento	Flavonas
	R ₃	Amarillo a rojizo amarillento	Flavonas
S ₂	R ₁	Amarillo a amarillo verdoso	Isoflavonas
	R ₂	Amarillo a rojizo amarillento	Flavonas
	R ₃	Amarillo a rojizo amarillento	Flavonas
S ₃	R ₁	Amarillo a rojo	Flavonas
	R ₂	Amarillo a rojo	Flavonas
	R ₃	Amarillo a rojo	Flavonas

Nota: ver figura 21, apéndice B, pág. 107.

Tabla XI. Resultados de las pruebas de Reacción con H₂SO₄ concentrado

Solvente	Repetición	Cambio de color
	R ₁	Amarillo fuerte
S ₁	R ₂	Amarillo fuerte
	R ₃	Amarillo fuerte
	R ₁	Amarillo fuerte
S ₂	R ₂	Amarillo fuerte
	R ₃	Amarillo fuerte
	R ₁	Amarillo fuerte
S ₃	R ₂	Amarillo fuerte
	R ₃	Amarillo fuerte

Nota: ver figura 22, apéndice B, pág. 107.

3.8 Prueba cromatográfica

Tabla XII. Resultados de la cromatografía en capa fina

Estándar	Metanol			Acetona			Etanol		
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃	R ₁	R ₂	R ₃
Hiperósido	+	+	+	+	-	+	+	+	+
Rutina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Quercetina	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Naringenina	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ácido clorogénico	-	-	-	-	-	-	+	+	+

Nota: ver apéndice B, figura 24, pág. 108.

3.9 Prueba espectrofotométrica

Cada una de las soluciones se analizó gráficamente comparando el espectro de absorción contra la longitud de onda, determinando que efectivamente se encontraban flavonoides presentes en algunas muestras.

En el apéndice A (pág. 98), se pueden observar las gráficas de los extractos obtenidos y las gráficas de las soluciones estándar, las que permitieron comparar los picos de las longitudes de onda más representativos, y de esta manera determinar la presencia de pigmentos colorantes del tipo flavonoides.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El objetivo general de este trabajo de investigación fue extraer aceite esencial crudo del Pericón (*Tagetes lucida Cav.*) y utilizar el desecho sólido para extraer los pigmentos naturales del tipo flavonoides. En la extracción de aceite esencial se utilizó el método de extracción por arrastre con vapor, a nivel de laboratorio, este método proporciona la facilidad de tener una partícula lo suficientemente pequeña, sin que sea arrastrada por el vapor y de esta manera garantizar que se extraerá la mayor cantidad de aceite esencial crudo, ya que al triturar la materia vegetal se rompen las vesículas o micelas donde se encuentra confinado el aceite esencial y por ello es más fácil extraerlo y arrastrarlo con vapor. Como se puede observar en la Tabla VII, pág. 80, el rendimiento de aceite esencial obtenido en las diferentes repeticiones se encuentra muy cercano al reportado en la literatura, que es de 0.3 % - 0.4 % en masa de acuerdo a Fenarolis(1998) y Cáceres(1998). El rendimiento promedio de aceite esencial crudo obtenido durante la extracción fue de 0.273 %.

Después de extraer el aceite esencial crudo se procedió a secar la materia vegetal (desecho sólido), hasta que presentó peso constante, para extraer el colorante natural, se empleo el método de extracción semicontinua, utilizando para ello el aparato denominado Soxhlet, el cual tiene como característica principal que se utilizan cantidades mínimas de solventes y estos son regenerados casi en su totalidad al separar el extracto del solvente en un rotaevaporador.

De los tres solventes que se usaron para realizar las extracciones (metanol, etanol y acetona), el que mayor rendimiento de extracto de colorante tuvo fue el metanol con 10.74 % en masa, seguido de etanol con 9.95 % en masa y por último la acetona con 8.10 % en masa, aunque la diferencia entre ellos no es muy apreciable, es de hacer notar que en el grupo de repeticiones con acetona existió un dato que se salió del rango, probablemente debido a existencia de humedad en la muestra seca o que el solvente no fue rotaevaporado en su totalidad, por lo que fue descartado para que el error fuera mínimo.

Para demostrar la presencia de pigmentos flavonoides en los extractos de pericón (*Tagetes lucida Cav.*) se utilizaron dos pruebas colorimétricas cualitativas, cromatografía en capa fina y espectrofotometría.

De la prueba colorimétrica Reacción de Shinoda (tabla X, pág. 82), se puede observar que la mayor cantidad de corridas de extractos obtenidos con metanol y acetona presentan un cambio de coloración de amarillo a rojizo amarillento, aunque en una corrida con acetona la coloración fue de amarillo a amarillo más fuerte, mientras que con los extractos obtenidos con etanol la coloración fue de amarillo a rojo, presentándose una coloración más pareja en las tres corridas. De estos datos se puede determinar la presencia de flavonoides, específicamente flavonas, que es el grupo al cual pertenecen los flavonoides presentes en el Pericón: Quercetagetina y Patuletina. (Ver figura 21, apéndice B, pág. 107)

En la prueba con ácido sulfúrico (tabla XI, pág. 83), se puede observar que la coloración fue de amarillo a amarillo fuerte, resultando positiva para todas las corridas ya que en esta prueba las flavonas reaccionan dando coloraciones fuertemente amarillas. (Ver figura 22, apéndice B, pág. 107)

El análisis cromatográfico se realizó con el método de cromatografía en capa fina. Mediante este método se pudo observar la presencia de flavonoides en los extractos obtenidos con los tres solventes. Por no contar con las soluciones estándar de Quercetagina y Patuletina, únicamente se compararon los extractos con otros compuestos de la familia de los flavonoides. Se puede observar que los extractos de metanol, acetona y etanol fueron positivos para hiperosido y quercetina (flavona), dando coloraciones fluorescentes amarillas (ver figura 24, apéndice B, pág. 108), los extractos de etanol, fueron positivos también para el ácido clorogénico (ver tabla XII, pág. 83). De acuerdo a éste análisis los extractos que contienen mayor cantidad de pigmentos flavonoides son los de etanol, seguidos de acetona y por último el metanol.

El análisis de espectrofotometría se realizó comparando las gráficas de absorbancia vrs longitudes de onda de los extractos obtenidos con los tres solventes contra las gráficas de cuatro compuestos estándar conocidos, naringenina (figura 13, apéndice A, pág. 102), quercetina (figura 14, apéndice A, pág. 103), rutina (figura 15, apéndice A, pág. 103), ácido clorogénico (figura 16, apéndice A, pág. 104), debido a que no se contaba con los compuestos estándar de quercetagina y patuletina, únicamente se compararon las longitudes de onda de los picos más representativos en cada una de las corridas. Se puede observar que los puntos más representativos de las figuras 4 (pág. 98), 5 (pág. 98), 8 (pág. 100) y 11 (pág. 101), coinciden con la gráfica de la quercetina, rutina y ácido clorogénico en 268 nm; de igual manera coinciden con el ácido clorogénico en 261 nm.

Estos datos se encuentran en el rango de 200 - 270 nm donde los flavonoides tienen una banda de absorción, específicamente la quercetagina se encuentra en un rango de 259 – 272 nm.

5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para comprobar cual de las dos hipótesis es la que mejor se ajusta a la parte experimental del presente estudio, se realizó un análisis estadístico de varianza de clasificación en un sentido o unilateral, esto debido a que solo investiga un factor.

Las hipótesis que se desean comprobar son hipótesis nula **el rendimiento de colorante, obtenido en la extracción es independiente del solvente utilizado** o la hipótesis alternativa **el rendimiento de colorante natural obtenido varía significativamente dependiendo del solvente utilizado**. El único factor que afecta este estudio es la secuencia extractiva de los solventes, ya que la variable que se desea medir es el rendimiento de extracto de colorante que se obtiene con tres diferentes solventes.

El análisis de varianza se basa en el modelado de los datos de la muestra por medio de un modelo lineal, que para el análisis unilateral se define por:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Al realizar este análisis se debe suponer:

1. Las observaciones son al azar e independientes.
2. El modelo es una representación verdadera de las observaciones.
3. Los errores al azar se encuentran normalmente distribuidos con media igual a cero una varianza σ^2

La nomenclatura que se utiliza esta dada por la siguiente tabla:

Tabla XIII. Nomenclatura usada para el análisis estadístico

TRATAMIENTO	OBSERVACIONES	Totales (S_j)	Promedios (y_j)
1	$Y_{11}, Y_{12} \dots Y_{1n}$	Y_1	Y_1
2	$Y_{21}, Y_{22} \dots Y_{2n}$	Y_2	Y_2
:	:	:	:
:	:	:	:
B	$Y_{b1}, Y_{b2}, \dots Y_{bn}$	Y_b	Y_b
n_j	n_1		
$\sum y_{ij}^2$			
ESS_j			

Donde:

n_j = Tamaño de la muestra

$\sum y_{ij}^2$ = Suma de cuadrados

S_j = Suma de corridas por tratamiento

y_j = Promedio de corridas

ESS_j = Suma del cuadrado de los errores

El análisis de varianza se realizó por medio de la siguiente tabla:

Tabla XIV. Fórmulas para el análisis de varianza

Fuente	SS	GI	MS	F_{muestra}	F_{tabulada}
Tratamientos	CSS	(k-1)	S_1	S_1/S_2	5.79
Error	ESS	(n-k)	S_2		
Total	TSS				

Las fórmulas para calcular los datos de la tabla anterior son:

$$TSS = \sum y_{ij}^2 - S^2/n$$

$$ESS = \sum (\sum y_{ij}^2 - S_j^2/n)$$

$$CSS = \sum S_j^2/n - S^2/n$$

$$S_1 = CSS/(k-1)$$

$$S_2 = ESS/(n-k)$$

El criterio para determinar si se acepta o se rechaza la hipótesis nula es:

Acéptese sí $F_{muestra} < F_{tabulada}$, de lo contrario rechácese.

Luego de aplicar las fórmulas anteriores, los datos que se obtuvieron en el análisis de varianza son:

Tabla XV. Resultados del análisis de varianza

Fuente	SS	GI	MS	F _{muestra}	F _{tabulada}
Tratamientos	0.0844	2	0.0422	0.66	5.79
Error	0.3157	5	0.0631		
Total	0.4001	7			

De los datos anteriores se puede observar que la $F_{muestra}$ es menor que $F_{tabulada}$, por lo tanto se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa, concluyendo que el rendimiento de colorante natural extraído es independiente del solvente utilizado.

CONCLUSIONES

1. Sí es factible extraer colorante natural del desecho sólido de Pericón (*Tagetes lucida Cav.*) después de haber extraído aceite esencial crudo.
2. Estadísticamente no existe diferencia significativa entre los tres solventes, sin embargo se obtuvieron mejores resultados con etanol.
3. Las pruebas colorimétricas, Reacción de Shinoda y Reacción con Ácido Sulfúrico concentrado demostraron la presencia de pigmentos flavonoides, especialmente flavonas.
4. Por medio de la cromatografía en capa fina se demostró la presencia de pigmentos flavonoides, tales como hiperosido, quercetina (flavona) y ácido clorogénico.
5. De acuerdo a la prueba cromatográfica el extracto en el que se identificó mayor número de pigmentos flavonoides fue el obtenido con etanol.
6. El análisis espectrofotométrico determinó la presencia de flavonoides en los extractos, al coincidir la longitud de onda con las soluciones estándar.

RECOMENDACIONES

1. En la etapa de recolección, secado y almacenamiento de la materia debe tenerse especial cuidado para evitar posibles variaciones en los resultados.
2. En el proceso de secado del desecho sólido, asegurarse de que la muestra tenga peso constante, para que no exista la posibilidad de presencia de humedad.
3. Al realizar el análisis cromatográfico en capa delgada, usar cromatofolios de aluminio de Sílica Gel 60F₂₅₄ , para obtener un porcentaje alto de confianza y validez.
4. En el proceso de rotaevaporación del solvente, tratar de que la temperatura no exceda de 40 °C para evitar caramelización del extracto.
5. Analizar otras plantas, propias de la región y con cultivos sostenidos, con el fin de obtener otro tipo de colorantes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1

George T. Austin. **Manual de procesos químicos en la industria.** (Colombia: Editorial McGrawHill, 1997) pp. 573-578.

2

Olga Lock Sing. **Colorantes naturales.** (Perú: Fondo Editorial, Pontificia Universidad Católica de Perú, 1997)

3

Marco Antonio Donado Miranda. Extracción de carotenoides de la caléndula (*calendula officinalis* L.) para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano. Tesis Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. USAC. Guatemala, 2000.

4

Armando Cáceres. **Plantas de uso medicinal en Guatemala.** (Guatemala: Editorial Universitaria, 1996) pp 305-307

5

Aceites esenciales y oleorresinas. Estudio de distintos productos y de mercados importantes. Financiado por el Gobierno de Dinamarca. CCI, UNCTAD/GATT. Ginebra, 1986

6

http://mail.udlap.mx/~tesis/meiq/perez_l_09/capitulo4.pdf, octubre de 2003

7

Manual del tintorero. Fundación Gabina J.M. (Guatemala. 1999)

8

Jorge Hernán Torres Romero. **Contribución al Conocimiento de las Plantas tánicas registradas en Colombia.** (Bogotá: Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales. Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural Universidad Nacional de Colombia, 1983)

9

Fritz Ullman. **Enciclopedia de química industrial** (Versión del alemán bajo dirección del Doctor Jose Estalella. Gustavo Gil, Editor; Barcelona: 1985) Tomos V pp 808-815, XII pp 457-476, XIII pp 693-703.

10

Claudia Lorena Barillas Aragón. Determinación de la concentración y rendimiento de 7-metoxicumarina y aceite esencial, en cinco estados de desarrollo del pericón (*Tagetes lucida Cav*) en la Alameda, Chimaltenango. Tesis Ing. Agrónoma. Facultad de Agronomía. USAC. Guatemala 1995.

11

José Vicente Martínez Arévalo. **Contribuciones al estudio del pericón *Tagetes lucida Cav*. en Guatemala**. Revista Tikalia. Facultad de Agronomía. Volumen xix. 2001

12

Jorge Alejandro Domínguez. **Métodos de investigación fitoquímica**. (México: Editorial Limusa, 1985)

13

Douglas Montgomery. **Diseño y análisis de experimentos**. (México: Grupo Editorial Iberoamericana, 1991)

14

Cromatografía de capa fina. www.ccf.com, 21 de septiembre de 2004

BIBLIOGRAFÍA

1. Aceites esenciales y oleorresinas. Estudio de distintos productos y de mercados importantes. Financiado por el Gobierno de Dinamarca. CCI, UNCTAD/GATT. Ginebra, 1986.
2. Austin, George T. **Manual de procesos químicos en la industria.** Colombia. Editorial McGrawHill. 1997. pp. 573-578.
3. Barillas Aragón, Claudia Lorena. Determinación de la concentración y rendimiento de 7-metoxicumarina y aceite esencial, en cinco estados de desarrollo del pericón (*Tagetes lucida Cav*) en la Alameda, Chimaltenango. Tesis Ing. Agrónoma. Facultad de Agronomía. USAC. Guatemala 1995.
4. Cáceres, Armando. **Plantas de uso medicinal en Guatemala.** Guatemala: Editorial Universitaria, 1996, pp 305-307
5. Domínguez, Jorge Alejandro. **Métodos de investigación fitoquímica.** México. Editorial Limusa, 1985
6. Donado Miranda, Marco Antonio. Extracción de carotenoides de la caléndula (*calendula officinalis L.*) para su utilización como colorante natural en productos para consumo humano. Tesis Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. USAC. Guatemala, 2000.
7. Gibaja Oviedo, Segundo. Pigmentos naturales quinónicos. Fondo Editorial UNMSM, 1988.
8. Lock Sing, Olga. **Colorantes naturales.** Perú: Fondo Editorial, Pontificia Universidad Católica de Perú, 1997
9. Manual del tintorero. Fundación Gabina J.M.Guatemala. 1999
10. Marmion, Daniel M. **Handbook of U:S: colorants foods, drugs, and cosmetic.** Second Edition. (USA: John Wiley & Sons, 1984)

11. Martínez Arévalo, José Vicente. Contribuciones al estudio del pericón *Tagetes lucida Cav.* En Guatemala. Revista Tikalia. Facultad de Agronomía. Volumen xix. 2001
12. Montgomery, Douglas. **Diseño y análisis de experimentos.** México. Grupo Editorial Iberoamericana. 1991
13. Rodríguez Hernández, Claudia María. Autenticación Citohistológica de cuatro plantas medicinales nativas. Tesis Químico Farmacéutico. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. USAC. Guatemala 2000.
14. Torres Romero, Jorge Hernán. **Contribución al Conocimiento de las Plantas tánicas registradas en Colombia.** Instituto de Ciencias Naturales. Museo de Historia Natural Universidad Nacional de Colombia. Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales. Bogota 1983.
15. Ullman, Fritz Dr. **Enciclopedia de Química Industrial** (Versión del alemán bajo dirección del Doctor Jose Estalella. Gustavo Gil, Editor). Barcelona 1985. Tomos V pp 808-815, XII pp 457-476, XIII pp 693-703.
16. [http://www.fundaciónpobreza.cl/publicaciones/archivadores/Silvo agropecuario/capítulo iv 9.html](http://www.fundaciónpobreza.cl/publicaciones/archivadores/Silvo_agropecuario/capítulo_iv_9.html), mayo de 2003
17. [http://www.mifarmacia.es/contenido/articulos/articulo hiperico.htm](http://www.mifarmacia.es/contenido/articulos/articulo_hiperico.htm) pp 1-2, mayo de 2003
18. [http://orbita.starmecia.com/~plantamed/h sanjuan.htm](http://orbita.starmecia.com/~plantamed/h_sanjuan.htm) pp. 2-3, mayo de 2003
19. <http://www.medestética.com/cientifica/Bancoarticulos/1999/03Hiperico.htm>, mayo de 2003
20. [http://mail.udlap.mx/~tesis/meiq/perez I 09/capitulo4.pdf](http://mail.udlap.mx/~tesis/meiq/perez_I_09/capitulo4.pdf), octubre de 2003
21. Cromatografía de capa fina. www.ccf.com, 21 de septiembre de 2004

APÉNDICE A

Gráficas absorbancia vrs longitud de onda

Figura 4. Gráfico de absorbancia vrs longitud de onda para S₁R₁

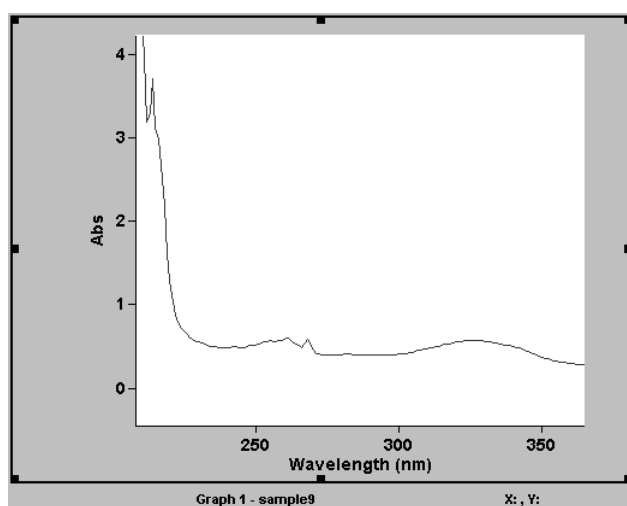


Figura 5. Gráfico de absorbancia vrs longitud de onda para S₁R₂

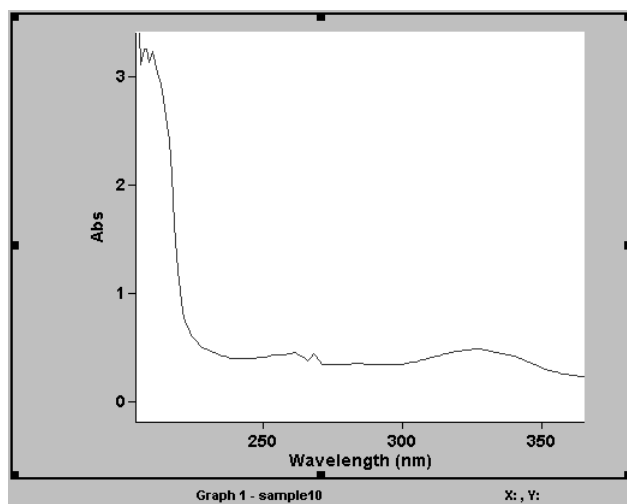


Figura 6. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₁R₃

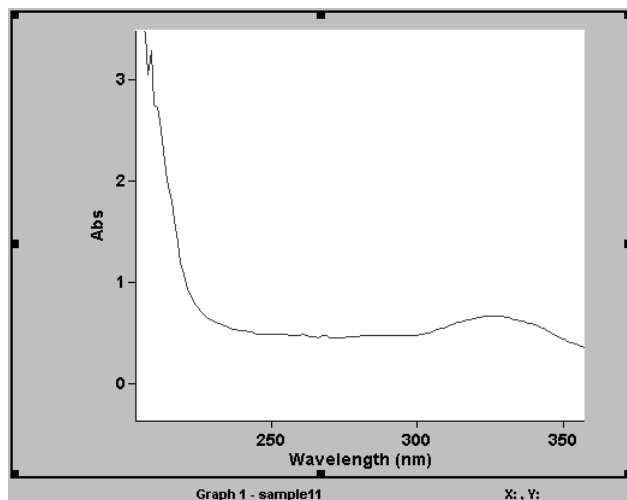


Figura 7. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₂R₁

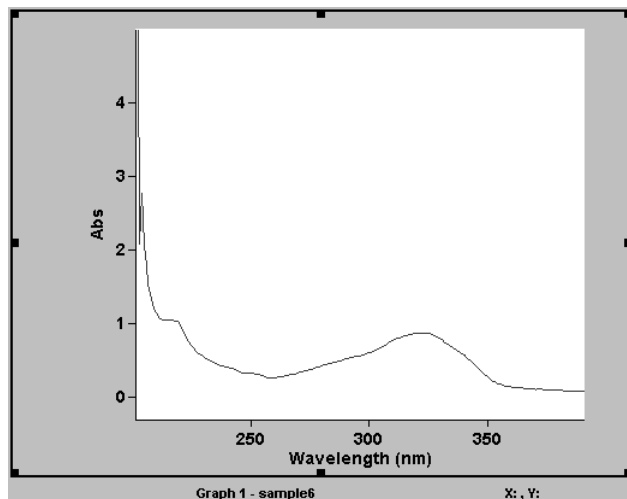


Figura 8. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₂R₂

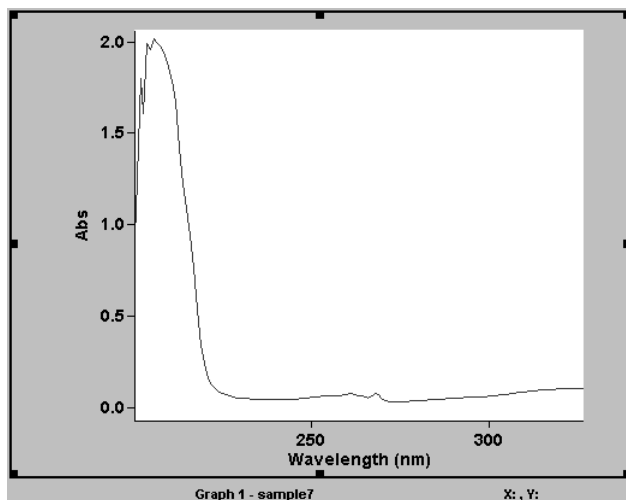


Figura 9. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₂R₃

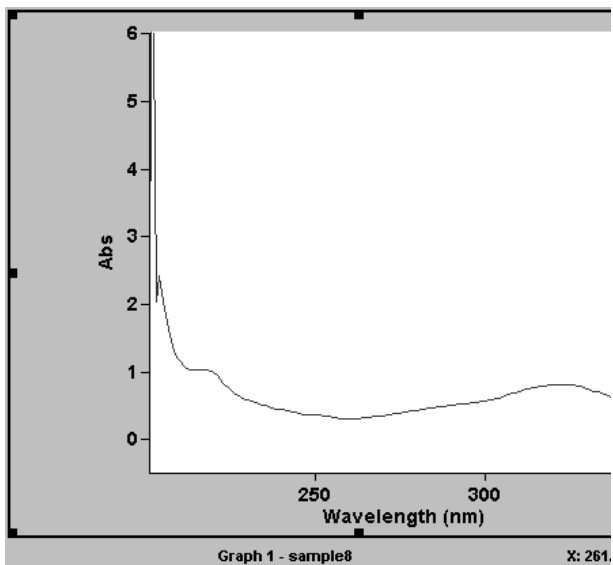


Figura 10. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₃R₁

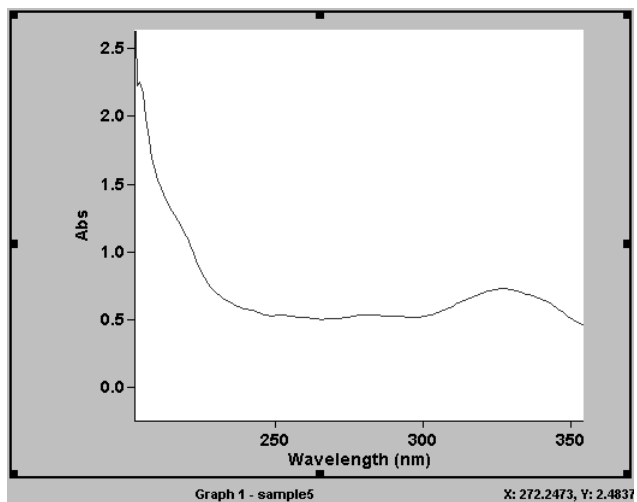


Figura 11. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₃R₂

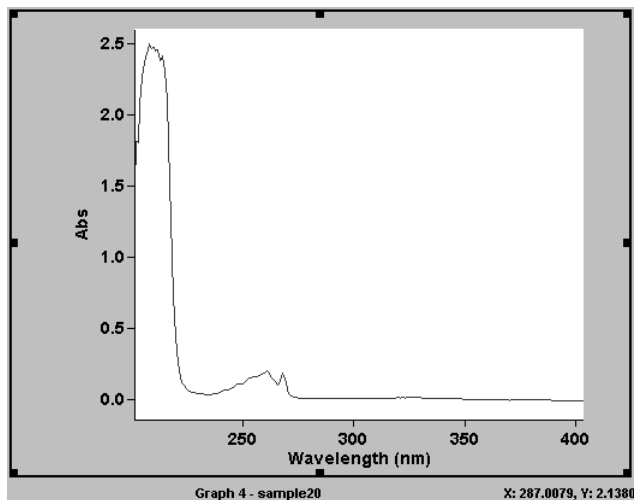


Figura 12. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para S₃R₃

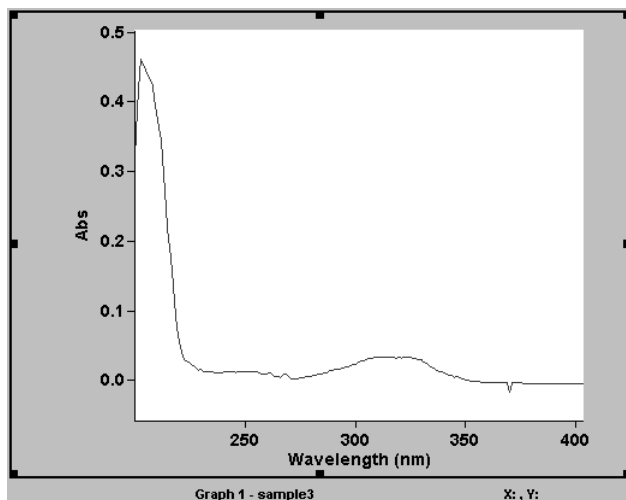


Figura 13. Gráfico de absorvancia vrs longitud de onda para estándar Naringinina

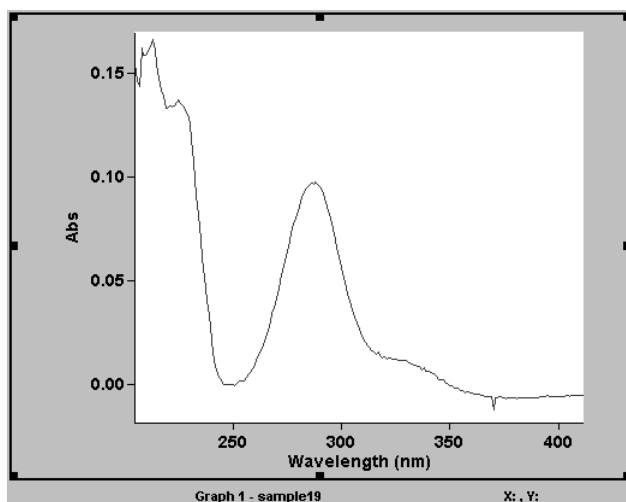


Figura 14. Gráfico de absorbancia vrs longitud de onda para estándar Quercetina

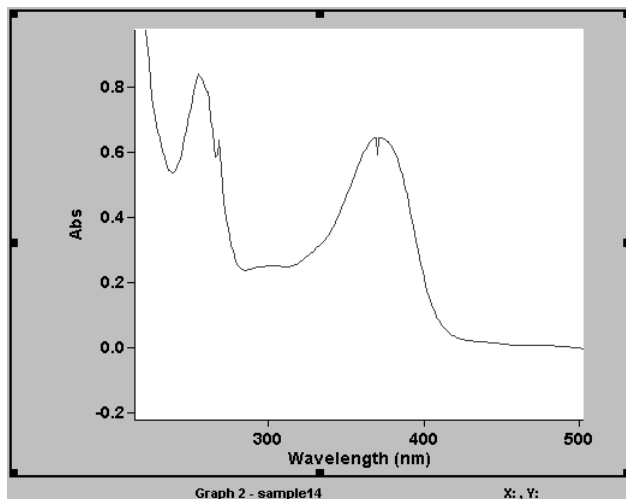


Figura 15. Gráfico de absorbancia vrs longitud de onda para estándar Rutina

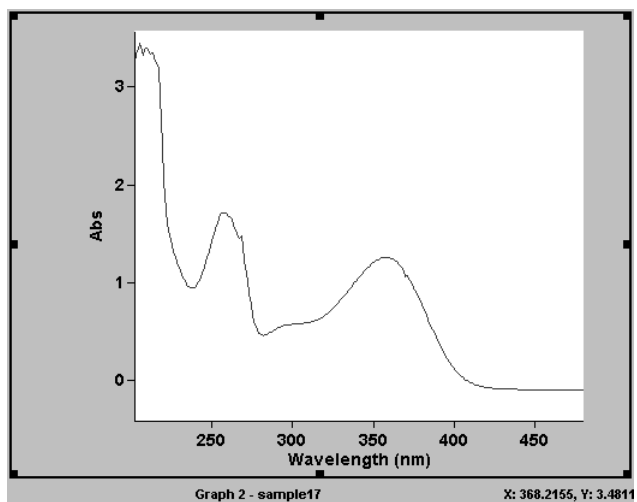
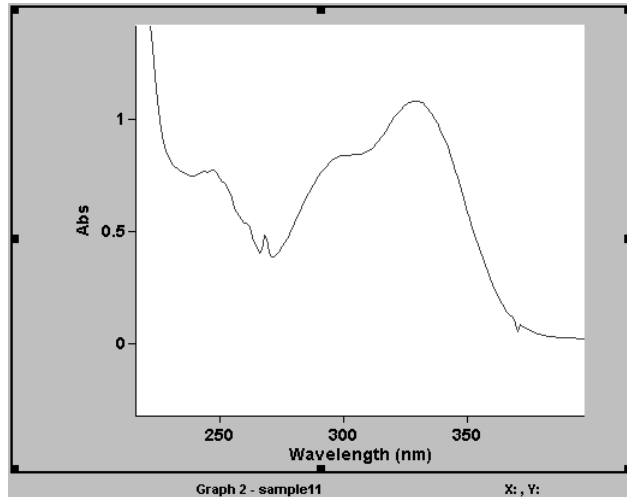


Figura 16. Gráfico de absorbancia vrs longitud de onda para estándar Ácido clorogénico



APÉNDICE B

Figura 17. Secador de Bandejas



Figura 18. Equipo Neoclevenger



Figura 19. Equipo Soxhlet



Figura 20. Rotaevaporador



Figura 21. Resultados de las pruebas de Shinoda

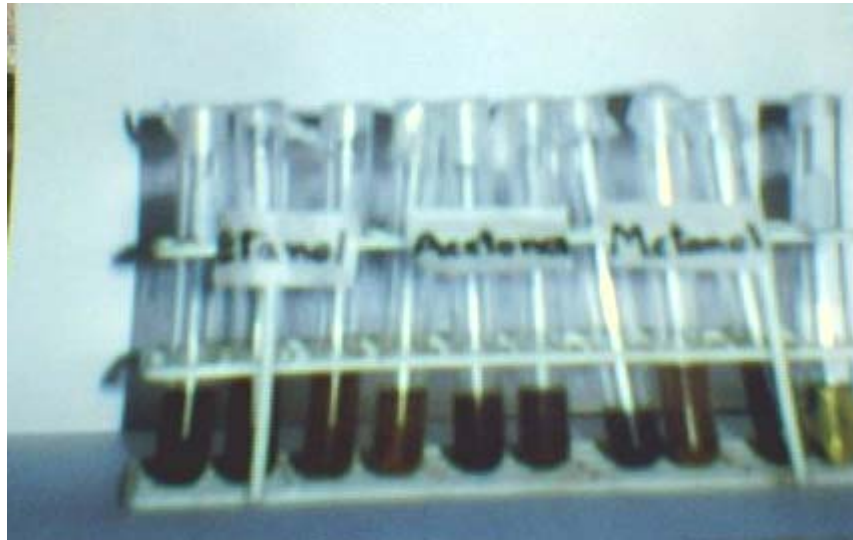


Figura 22. Resultados de las pruebas de Ácido Sulfúrico concentrado

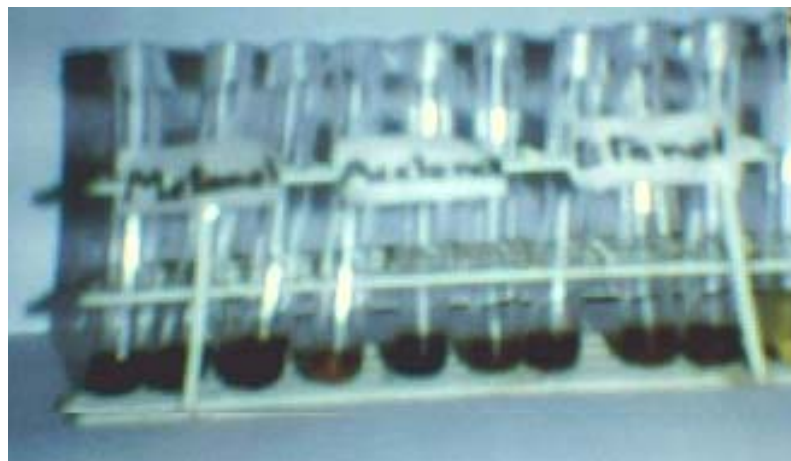


Figura 23. Desarrollo de la placa cromatográfica

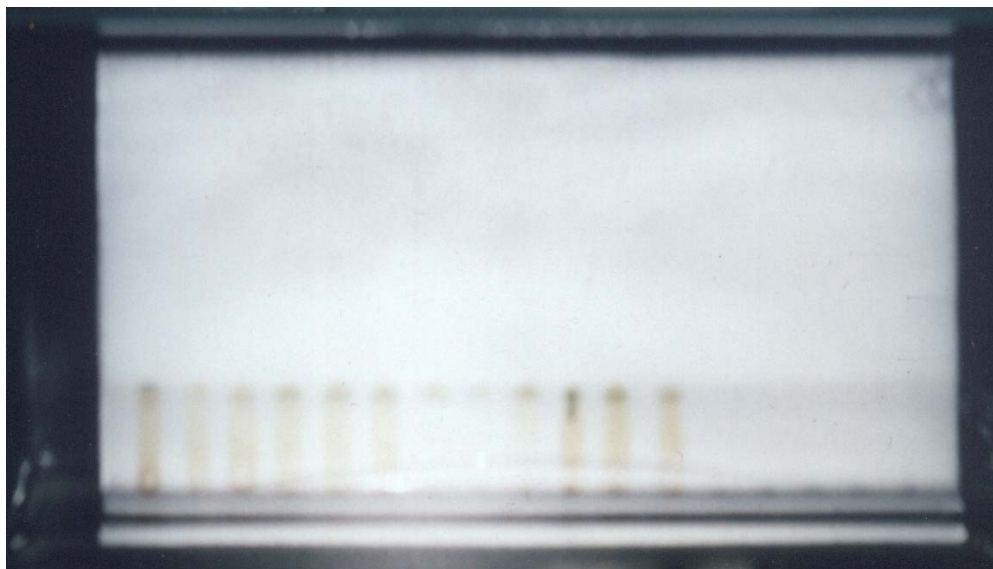


Figura 24. Resultados de la cromatografía de capa fina

