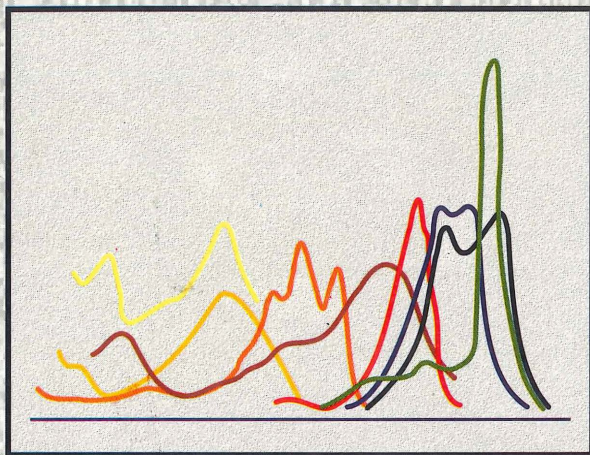


# COLORANTES NATURALES

Olga Lock Sing de Ugaz



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERÚ  
FONDO EDITORIAL 1997



**L**a obra contiene información acerca de algunos grupos de compuestos químicos de ocurrencia natural que son o pueden ser aplicados como colorantes naturales para alimentos y para la tinción de fibras. Estos son clasificados de acuerdo a su naturaleza química como carotenoides, flavonoides, antocianinas, betalaínas, quinonas, xantonas, clorofila, entre otros. Para cada uno de ellos se contempla las metodologías usuales de extracción, aislamiento y determinación estructural. Se incluye algunos aspectos de los colorantes naturales usuales para alimentos, en lo que se refiere a la fuente natural, así como a la materia colorante en ella contenida; así mismo, se incluye una relación de 150 especies tintóreas utilizadas en el teñido de fibras en diversas zonas geográficas de nuestro Perú.

Con la información proporcionada, en esta obra se pretende impulsar las investigaciones de nuestros recursos naturales como fuente de colorantes naturales, así como su aprovechamiento industrial.

## COLORANTES NATURALES



# COLORANTES NATURALES

*Olga Lock Sing de Ugaz*



**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL PERU  
FONDO EDITORIAL 1997**



Primera edición, octubre de 1997

Cátatula: AVA Diseños

Diagramación: Marilú Alvarado Vargas

Fotografías: Diana Pantac Li

Alberto Ugaz Lock

*Colorantes Naturales*

Copyright © 1997 por Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú, Av. Universitaria, cuadra 18. San Miguel. Apartado 1761. Lima 100, Perú. Telefax: 4600872, Teléfonos: 4602870 - 4602291, anexos 220 - 356.

Prohibida la reproducción de este libro por cualquier medio, total o parcialmente, sin permiso expreso de los editores.

*Derechos Reservados*

ISBN 9972-42-093-0

Impreso en el Perú - Printed in Peru

*A Dionisio  
A Alberto, Liliana,  
Patricia, Carlos, Jorge y Susann*



## **CONTENIDO**

Prólogo	xv
<b>CAPITULO I</b>	
<b>COLORANTES NATURALES</b>	
1.1 Generalidades	1
1.2 Sinopsis Histórica	5
1.3 Los Colores de la Naturaleza	15
Referencias	15
<b>CAPITULO II</b>	
<b>CAROTENOIDES</b>	
2.1 Introducción	45
2.2 Estructura y Nomenclatura	46
2.3 Biosíntesis	51
2.4 Extracción y Purificación	51
2.5 Identificación	60
2.6 Distribución	63
Referencias	68
<b>CAPITULO III</b>	
<b>FLAVONOIDES</b>	
3.1 Introducción	71
3.2 Estructura	72
3.3 Biosíntesis	74
3.4 Extracción y Purificación	77
3.5 Identificación	83
Referencias	90

**CAPITULO IV**  
**ANTOCIANINAS**

4.1	Introducción	95
4.2	Estructura y Estabilidad	97
4.3	Biosíntesis	103
4.4	Extracción y Aislamiento	103
4.5	Identificación	105
4.6	Distribución	106
	Referencias	116

**CAPITULO V**  
**BETALAINAS**

5.1	Introducción	119
5.2	Estructura y Estabilidad	120
5.3	Biosíntesis	124
5.4	Extracción y Purificación	127
5.5	Identificación	128
	Referencias	133

**CAPITULO VI**  
**QUINONAS**

6.1	Introducción	137
6.2	Estructura	138
6.3	Biosíntesis	138
6.4	Extracción y Purificación	142
6.5	Identificación	144
	Referencias	164

**CAPITULO VII**  
**MISCELANEOS**

7.1	Xantonas	167
7.2	Clorofila	174
	Referencias	180

**CAPITULO VIII**  
**COLORANTES NATURALES PARA ALIMENTOS**

8.1	Achiote y Bixina	181
8.2	Azafrán y Crocina	185
8.3	Betarraga y Betanina	186

8.4	Cochinilla y Acido Carmínico	189
8.5	Marigold y Xantófilas	193
8.6	Palillo y Curcumina	197
8.7	Paprika y Carotenoides	201
8.8	Uvas (piel o cáscara) y Antocianinas	205
8.9	Miscelaneos	207
	Ayrampo y Betanina	207
	Maíz Morado y Antocianinas	208
	Hojas Verdes y Clorofila	210
8.10	Comportamiento de los Colorantes Naturales frente a los Reactivos Comunes	210
8.11	Exportaciones Peruanas de Colorantes Naturales	213
	Referencias	219

## CAPITULO IX

### TEÑIDO DE FIBRAS CON COLORANTES NATURALES

9.1	Introducción	231
9.2	Relación de Especies Vegetales Utilizadas en el Teñido de Fibras	231
9.3	Tecnología de Tinción	232
9.4	Composición Química de Algunas Especies Utilizadas en el Teñido de Fibras	244
	Referencias	252
	Indice de Materias	263
	Indice de Compuestos	267
	Indice de Nombres Específicos	271



## LA EXPERIENCIA

*A medida que la edad avanza, el pensamiento se enriquece, el juicio se afina, el cúmulo de experiencias y conocimientos presta a la reflexión una agudeza irremplazable. No hay nada que valga más que los largos años de una vida laboriosa.*

*Roger. Prior de Taize*



## PROLOGO

*Los colorantes han sido ampliamente utilizados en la preparación de alimentos y bebidas y continúan haciendo a nivel mundial una contribución significativa en la preparación y procesamiento de los mismos. Así mismos, desde Antiguo, antes del desarrollo de la industria de colorantes de síntesis, el teñido de las fibras se hacía con plantas conteniendo colorantes naturales, llamadas especies tintóreas, las que eran cultivadas a gran escala constituyendo una importante fuente de ingresos para los países productores.*

*A pesar de su importancia económica, a pesar del "boom" actual de la "vuelta a lo natural", la industria de los colorantes naturales no han alcanzado aún en nuestro país el desarrollo que debía esperarse de un país poseedor de una biodiversidad inigualable.*

*El principal objetivo de esta obra es incentivar a los lectores a lograr un mayor aprovechamiento, en beneficio del país, de nuestros recursos naturales, los que pueden ser utilizados como fuente de colorantes, y como resultado de una acción conjunta de investigadores, empresa y estado.*

*Teniendo en consideración este objetivo, la presente publicación da a conocer algunos aspectos de diversos grupos de compuestos químicos de ocurrencia natural (Cap. 1), clasificados por su naturaleza química como carotenoides (Cap. 2), flavonoides (Cap. 3), antocianinas (Cap. 4), betalaínas (Cap. 5), quinonas (Cap. 6), xantonas, y clorofila (Cap. 7). Estos compuestos químicos se encuentran en diferentes recursos naturales, especialmente en las plantas, incluyendo algas, hongos y líquenes, y son los responsables que algunos de ellos sean utilizados como fuente de colorantes naturales para alimentos (Cap. 8), y otros, para la tinción de fibras (Cap. 9).*

*Deseo expresar mis agradecimientos a los muchos investigadores autores de las referencias incluidas, por que sus esfuerzos combinados a través de sus publicaciones, han hecho posible presentar la información en esta obra, y a la Pontificia Universidad Católica del Perú por las facilidades otorgadas para la elaboración de la misma.*

*Mis reconocimientos muy especiales a mis colaboradores del Laboratorio de Química Orgánica y Productos Naturales, y a todos mis alumnos tesisistas con quienes a través del quehacer diario en el laboratorio conocemos día a día nuevas técnicas a aplicar en nuestras investigaciones en productos naturales. A mi esposo e hijos, por el permanente apoyo y estímulo brindado, especialmente a Susy y Carlos quienes tipearon el manuscrito y elaboraron las fórmulas químicas.*

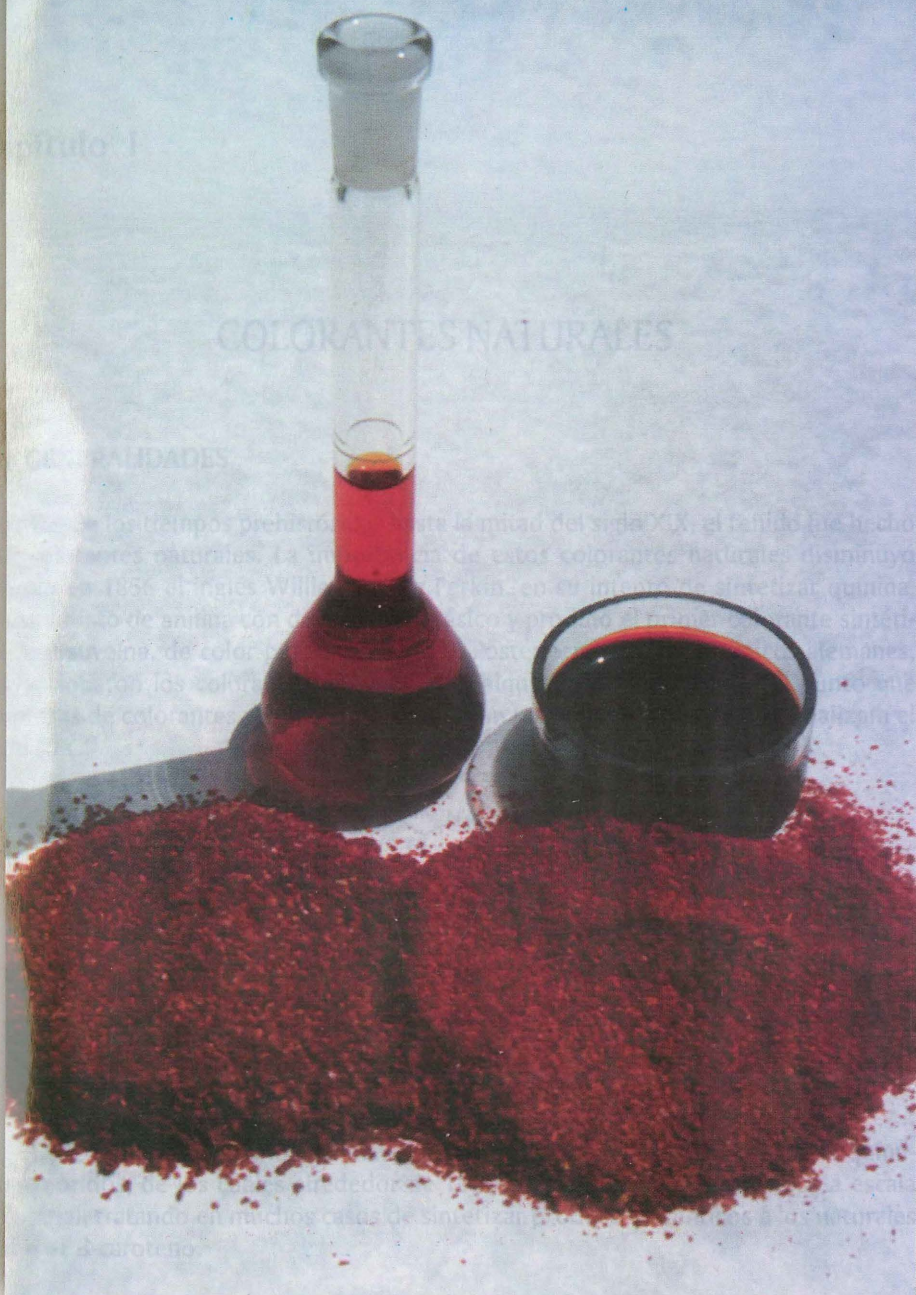
O. L. S. de U.

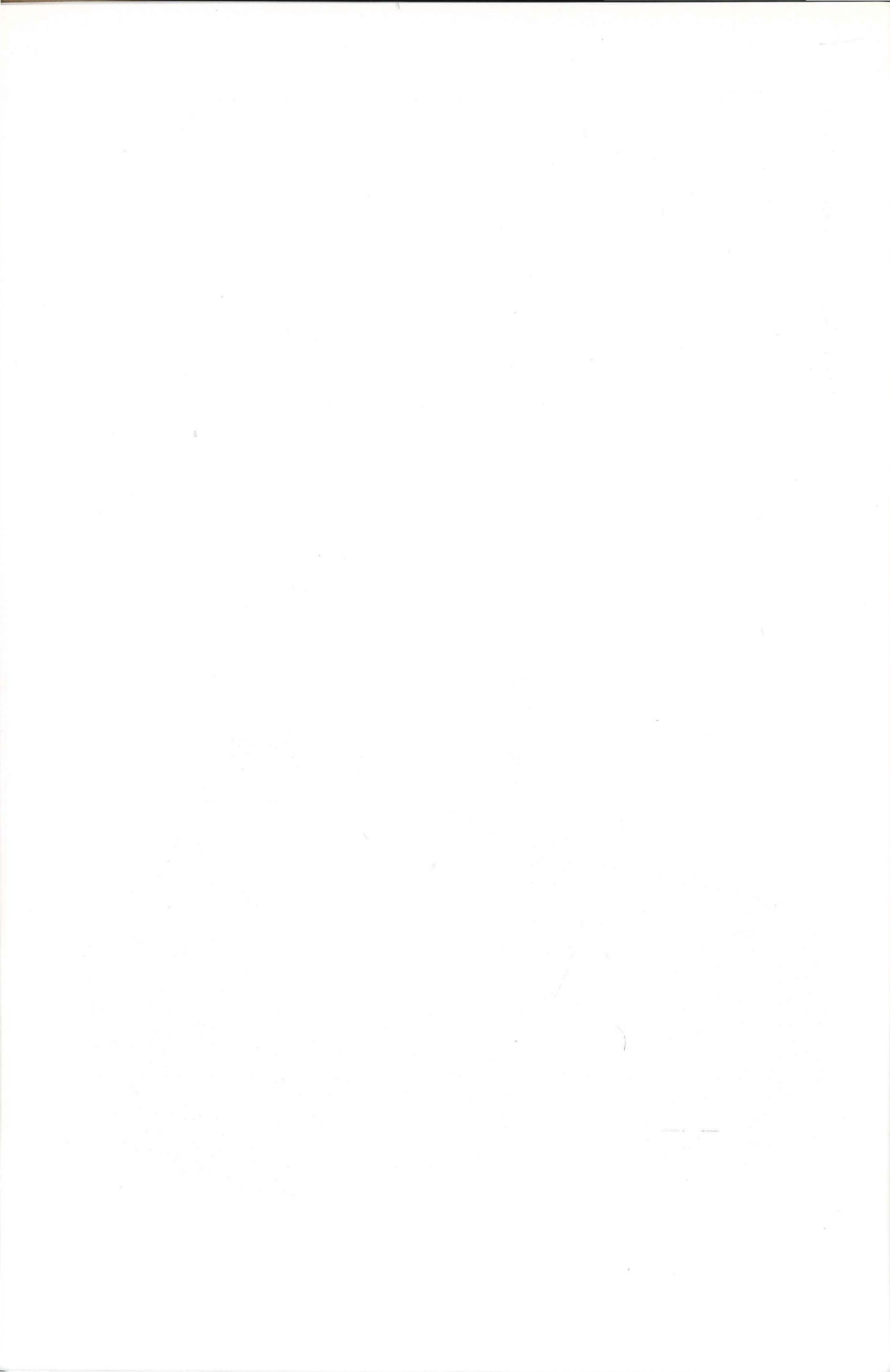
## COLORANTES NATURALES

### GENERALIDADES

Los tiempos prehistóricos, hasta la mitad del siglo XIX, el tinte más usado era el rojo natural. La introducción de estos colorantes naturales disminuyó a partir de 1856 el químico William Perkin, en el momento de descubrir la quinina sintética. Este descubrimiento abrió la puerta a la síntesis de colorantes sintéticos, que hoy en día son los colorantes más utilizados. Los colorantes sintéticos se obtienen a partir de compuestos orgánicos, como el carbón, el petróleo y el gas natural.

El colorante sintético más utilizado es el rojo de quinina. Este colorante se obtiene a partir de la quinina sintética, que se trata con ácido clorhídrico para obtener el colorante. El rojo de quinina es un colorante muy resistente a la luz y al lavado, pero es tóxico y puede causar problemas de salud. Por este motivo, se ha desarrollado el rojo de caroteno, que es un colorante sintético más seguro y saludable. El rojo de caroteno se obtiene a partir de la síntesis de carotenos sintéticos.





## Capítulo I

# COLORANTES NATURALES

### 1.1 GENERALIDADES

Desde los tiempos prehistóricos hasta la mitad del siglo XIX, el teñido fue hecho con colorantes naturales. La importancia de estos colorantes naturales disminuyó cuando en 1856 el inglés 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 (Fig. 1.1). 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.

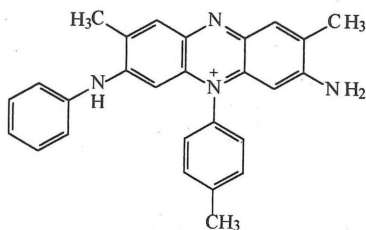


Fig. 1.1 Mauveína

En los últimos 130 años, se han sintetizado varios miles de compuestos químicos coloridos, de los cuales alrededor de 10000 son o han sido producidos a escala industrial, tratando en muchos casos de sintetizar productos idénticos a los naturales como el  $\beta$ -caroteno.

En 1987 se estimó que la producción mundial de colorantes era de alrededor de 700000 toneladas; de esta producción, un poco más del 50% fue destinada a la industria textil y un 2,2% fue destinado al sector de alimentos, medicamentos y cosméticos.

En años recientes se ha renovado el interés en colorantes naturales por recientes limitaciones en el uso de algunos sintéticos en alimentos, medicamentos y en productos cosméticos debido a su toxicidad. Son frecuentes las denuncias por el uso de colorantes no adecuados en estos productos de uso humano, como por ejemplo la presencia de colorantes sintéticos nocivos como *Rhodamina  $\beta$*  y *Naranja permanente* en lápices de labios, o de otros colorantes no permitidos en caramelos, refrescos y gelatinas. Debemos aclarar que mientras unos colorantes no se permiten en unos países, otros sí lo permiten; por ejemplo, el *rojo allura* (Rojo N°40) y el *azul brillante* (Azul N°1) no son permitidos en la Unión Europea pero sí lo son en EUA (por la Administración de Alimentos, Medicamentos y Cosmética, AMC), mientras que en los colorantes *carmoisina* (E 122) y el *Ponceau 4R* (E 124), sucede lo contrario<sup>1</sup>.

La situación y perspectivas actuales de los colorantes naturales se puede ejemplificar con los carotenos, que son uno de los grupos más importantes en el área de los alimentos, medicamentos y cosméticos. Estos compuestos entre los que destaca el  $\beta$ -caroteno por sus propiedades antioxidantes y ser precursor de la Vitamina A, tienen un mercado actual de 19 millones de dólares, de los cuales aproximadamente 70,0% está aplicado en el sector alimentario, 21,1% como suplemento vitamínico, 5,3% en productos cosméticos y 3,6% para otros productos<sup>1</sup>.

Esto ha originado un considerable interés mundial en el desarrollo de los colorantes naturales. Un indicativo de ello, es el número y distribución de las patentes reportadas a nivel mundial entre 1969 y 1984. Como se observa en la Tabla 1.1, el incremento en patentes es mayor en los últimos cinco años, y de un total de 427 patentes, 356 están referidas a colorantes naturales y 71 a colorantes sintéticos.

Los colorantes naturales pueden ser clasificados según su naturaleza química en diversos grupos (Fig. 1.2 y Tabla 1.2). Sus valores de  $\lambda_{\text{máx}}$  correspondientes se encuentran en la Figura 1.3.

Como fuentes naturales de estos colorantes podemos considerar las plantas superiores, las algas, hongos y líquenes, algunos insectos, así como algunos organismos marinos invertebrados (no se está considerando a los animales vertebrados)<sup>2,3</sup>.

Son muchas las plantas superiores que producen colorantes; a pesar de su universalidad no están lo suficientemente concentrados para permitir una rápida y económica extracción, y en consecuencia son relativamente escasas las que tienen gran importancia comercial como fuente de colorantes. Así, el escoger una planta a ser usada con

**Tabla 1.1.** Número de patentes según fuente de colorantes y según sus aplicaciones en los períodos 1969-1978 y 1979-1984<sup>1</sup>

	Período		Total
	1969-1978	1979-1984	
Fuente de colorantes	210	217	427
Aplicaciones de los colorantes	134	136	270
<b>Total</b>	<b>344</b>	<b>353</b>	<b>697</b>

tal fin 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. Sobre los colorantes de plantas superiores nos vamos a referir en los capítulos siguientes.

Las algas deben su color a las ficobilinas, las que 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 grande, 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  $\beta$ -caroteno, y cetoderivados como cantaxantina, astaxantina y echinenona.

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 las betalainas y en menor 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 Antiguo. Dentro de los compuestos coloreados que ellos producen están las quinonas (antraquinonas, naftoquinonas y terfenilquinonas), dibenzofuranos (ácido úsrico y derivados), xantonas, depsidos y depsidonas, carotenoides y xantofilas, así como fenoxazinas. Entre los líquenes podemos destacar las especies del género *Xanthoria*, cuya coloración naranja y naranja-rojizo brillantes sería debida a la presencia de antraquinonas, y del género *Cladonia*, en los que los colores rojo a rojo-sangre sería debido a la contribución de las naftoquinonas presente.

Tabla 1.2. Clasificación de los colorantes naturales según su naturaleza química

Naturaleza química	Algunos ejemplos	Color predominante	$\lambda_{\text{máx}}^*$ , nm
• tetrapirroles (lineales y cíclicos)	ficobilinas	azul-verde	610-650 (ficocianinas)
		amarillo-rojo	540-570 (ficoeritrinas)
	clorofila	verde	640-660
• carotenoides (tetraterpenoides)	carotenoides	amarillo- anaranjado	400-500
• flavonoides	flavonas	blanco-crema	310-350
	flavonoles	amarillo-blanco	330-360
	chalconas	amarillo	340-390
	auronas	amarillo	380-430
	antocianinas	rojo-azul	480-550
• xantonas	xantonas	amarillo	340-400
• quinonas	naftoquinonas	rojo-azul-verde	
	antraquinonas	rojo-púrpura	420-460
• derivados indigoides e índoles	indigo	azul-rósado	
	betalaínas	amarillo-rojo	470-485 (betaxantinas) 530-554 (betacianinas)
• pirimidinas sustituidas	pterinas	blanco-amarillo	
	flavinas	amarillo	
	fenoxazinas	amarillo-rojo	
	fenazinas	amarillo-púrpura	

\* Son valores aproximados, los valores varían de acuerdo al modelo de sustitución y a los solventes utilizados; sólo se señala el rango de absorción a mayor longitud de onda.

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 podemos destacar la cochinilla por su contenido de ácido carmínico, así como el kermes 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 amarillos, naranjas y rojos de crustáceos, peces, anfibios y reptiles.

Las flavinas, como la riboflavina o vitamina B<sub>2</sub>, 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 *Streptomyces*, mayormente amarillo y ocasionalmente azul y azul violeta.

Las fenoxazinas se han encontrado en algunas bacterias *Streptomyces*, en hongos *Polyporus cinnabarines* y en líquenes como *Rocella tinctoria* y otros, que contienen orceína.

Se menciona 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, consideramos que las estrategias biotecnológicas en la producción de colorantes naturales que se han desarrollado en los últimos años son de gran importancia y que podrían otorgar una serie de ventajas, entre ellas, las económicas.

## 1.2 SINOPSIS HISTORICA <sup>4-6</sup>

Hasta mediados del siglo XIX, las plantas, animales y minerales fueron las únicas fuentes como agentes colorantes sea para teñir o pigmentar.

Las primeras fibras teñidas fueron usadas en tiempos prehistóricos 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, los que resultaron

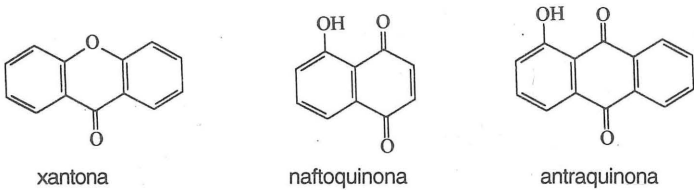
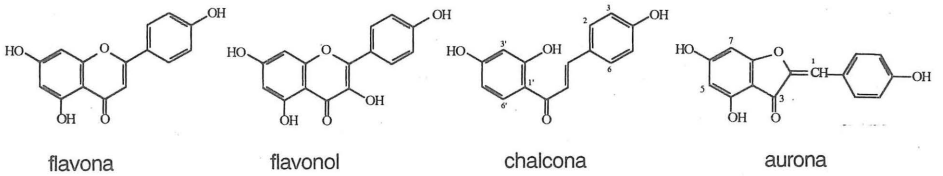
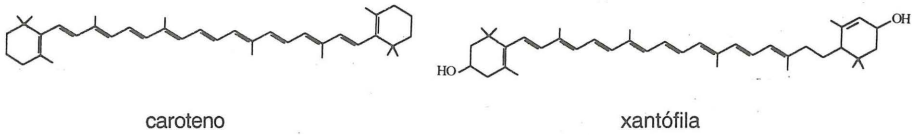
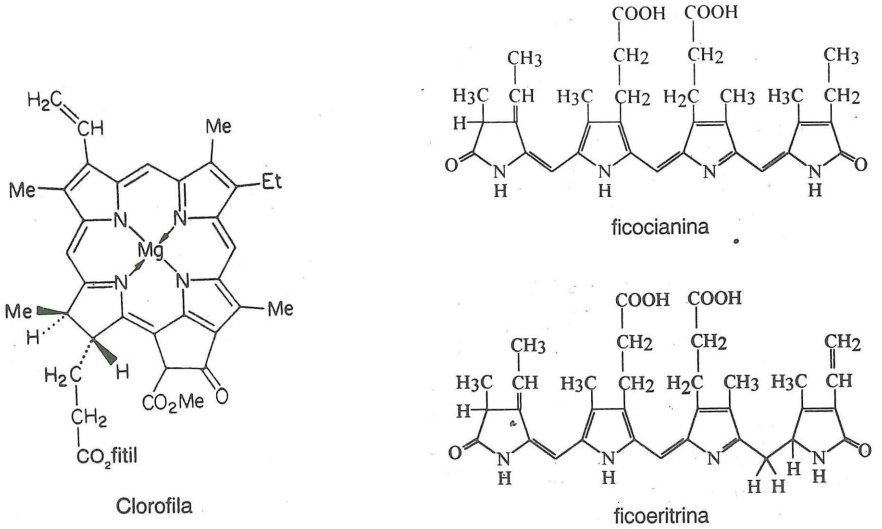
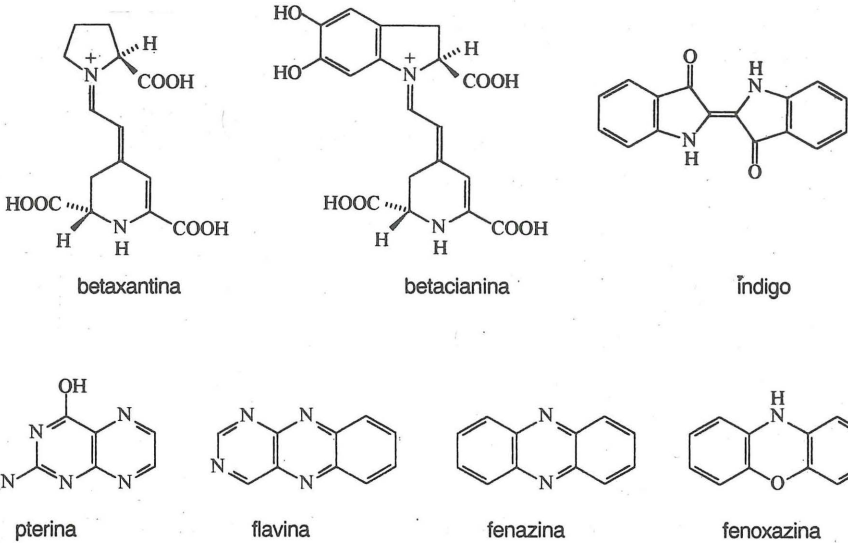


Fig. 1.2 Colorantes naturales y su naturaleza química

continúa Fig. 1.2



de muy pobre solidez, pobre resistencia al lavado y a la luz. Teñidos más sofisticados fueron desarrollados posteriormente, produciéndose colores con mejor solidez.

El colorante azul de índigo que deriva de la planta *Indigofera tinctoria*, ha sido conocida en la India por cerca de 4000 años. Los comerciantes fenicios y los migrantes, introdujeron estos colorantes en el Mediterráneo; otro colorante azul, *Isatis tinctoria*, ha estado en uso desde la Edad de Bronce (2500-800 a.C.). El Indigo es un ejemplo de un colorante a la tina y su aplicación a la fibra involucró un procedimiento complicado. La planta tenía que ser fermentada y tratada con orina, luego la fibra era introducida en el todavía incoloro baño de colorante y posteriormente colgada bajo el sol para conseguir en la fibra un color azul insoluble.

Muchos tonos de rojo pudieron obtenerse con la raíz de rubia, *Rubia tinctorum*, planta del Mediterráneo y de Asia. La "rubia" contiene alizarina y es un ejemplo de un colorante para mordiente. Muchos colorantes naturales pertenecen a este grupo de colorantes.

Las plantas utilizadas así como los antiguos procedimientos de teñido han sido registrados, especialmente por dos historiadores del primer siglo después de Cristo.

El naturalista romano Plinio El Viejo se refiere en sus escritos tanto al índigo como al glasto, dos colorantes comunes usados por las tribus Gálicas. 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 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 medioevales. En aquellos tiempos, a menudo, las mismas plantas eran usadas para teñir y para fines medicinales.

Y así fueron desarrollándose gremios que perfeccionaron los procesos de teñido, conservándose éstos guardados como secreto. Famosos centros de producción y comercialización fueron Venecia, Florida, Génova, Frankfurt, Nüremberg y Londres.

Los primeros pueblos en el continente americano fueron expertos en el arte de las fibras, incluyendo procesos de teñido. Después del descubrimiento del Nuevo Mundo, los colorantes fueron exportados a Europa, entre ellos, la morina, colorante amarillo del *Clorophora tinctoria*; la hemateína, colorante rojo del *Hematoxylum campechianum*; el rojo carmín del insecto *Dactilopius coccus Costa*.

Del Perú Antiguo tenemos que mencionar los textiles de Paracas (Fig. 1.4), que a juzgar por los efectos conseguidos en sus telas, cerca de 190 tonos, la riqueza de los materiales colorantes debe haber sido muy grande y variada. Así, se dice que los tonos rojos se daban con cochinilla, y la raíz de chapi-chapi (*Relbunium (Galium) microphyllum Hert*); los azules con flores de mullaca (*Muehlenbeckia volcanica*) y con añil (*Indigofera añil*); los morados con paguau (*Bidens humilis HBK*) y frutales de quisca-quisca (*Berberis sp.*); verdes y amarillos con ramas de chilca (*Baccharis prostata R. et. P.*), ramas de molle (*Schinus molle L.*) y palo de tiri (*Solanum pseudolycioides Rusb*); también fueron usadas otras plantas como tara (*Caesalpinia tinctoria HBK Domb*), jagua (*Genipa oblongifolia R. et. P.*), palo de Brasil (*Caesalpinia echinata*), entre otras.

Diversos estudios han determinado los colorantes naturales presentes en nuestros antiguos textiles; uno de los más recientes ha analizado textiles pertenecientes a varias culturas precolombinas para determinar la presencia y abundancia relativa de los colorantes<sup>5</sup>.

Aún en la actualidad muchas de las comunidades nativas de nuestro país y de otros países utilizan diversas plantas en el teñido artesanal (Fig. 1.5), especialmente de fibra de lana (de oveja y alpaca), utilizando las diferentes partes de la planta, tales como raíces, tallos, hojas, flores, corteza, etc. (Capítulo IX).

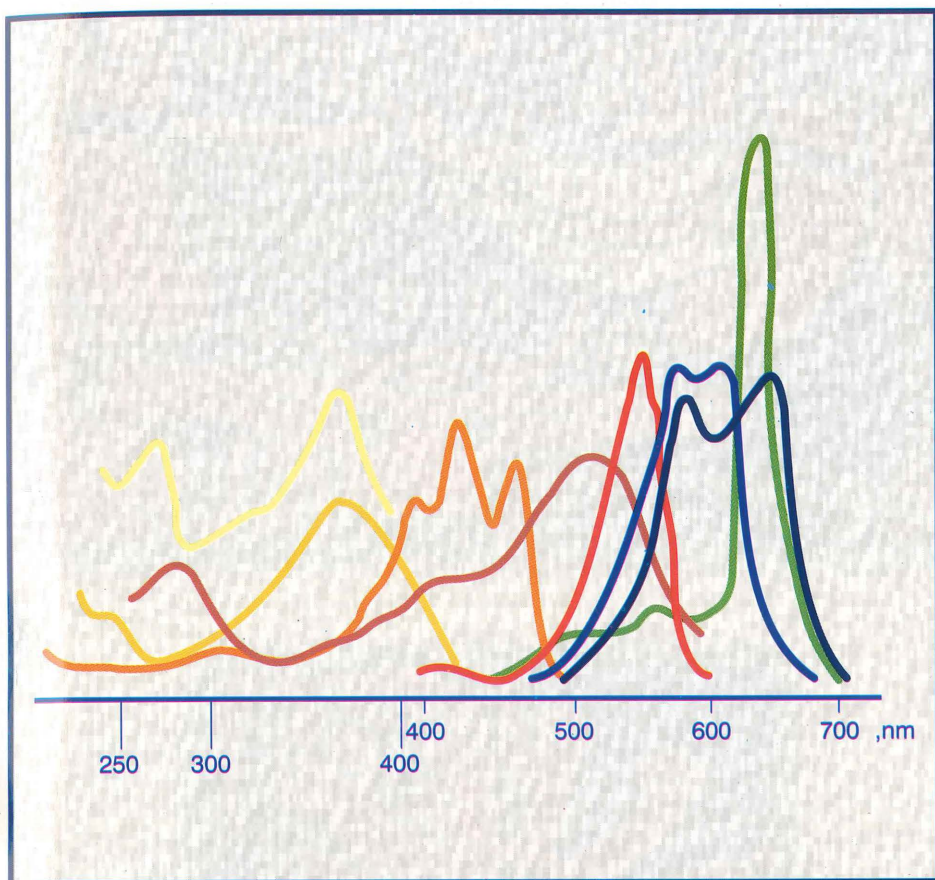


Fig. 1.3 Propiedades espectrales de las diferentes clases de colorantes\*

Percepción de los colores de acuerdo a la longitud de onda de la luz absorbida

Color absorbido	rojo	anaranjado	amarillo	amarillo-verdoso	verde	verde-azulado	azul	violeta
$\lambda_{\text{máx}}$ mn	675	600	585	570	540	490	460	410
Color percibido	azul-verdoso	azul	violeta	rojo-violáceo	anaranjado	amarillo	amarillo-verdoso	

Las curvas de absorción han sido representadas con los colores percibidos por el ojo humano.

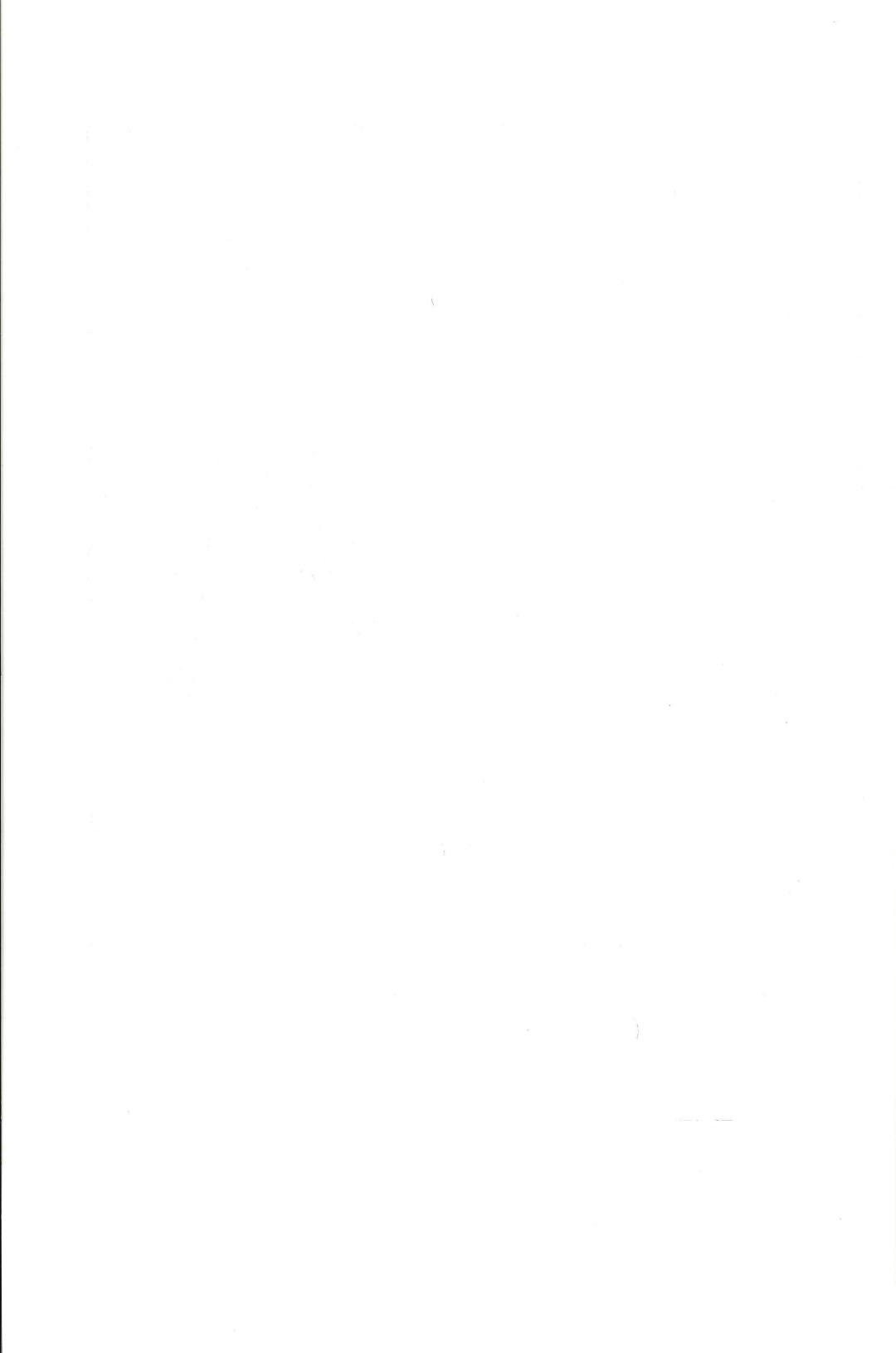


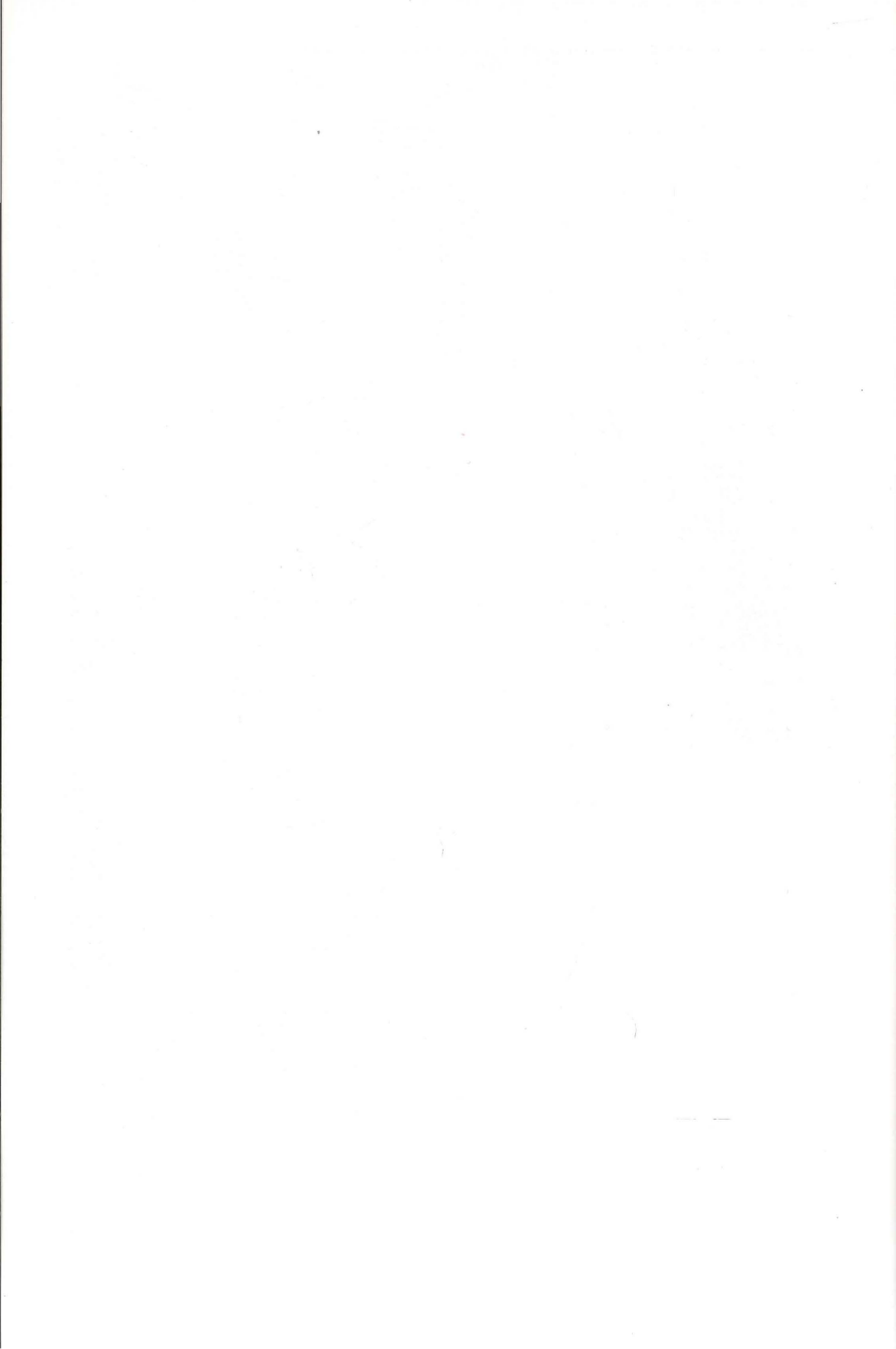


Fig. 1.4  
Textiles de Paracas





Fig. 1.5 Teñido artesanal

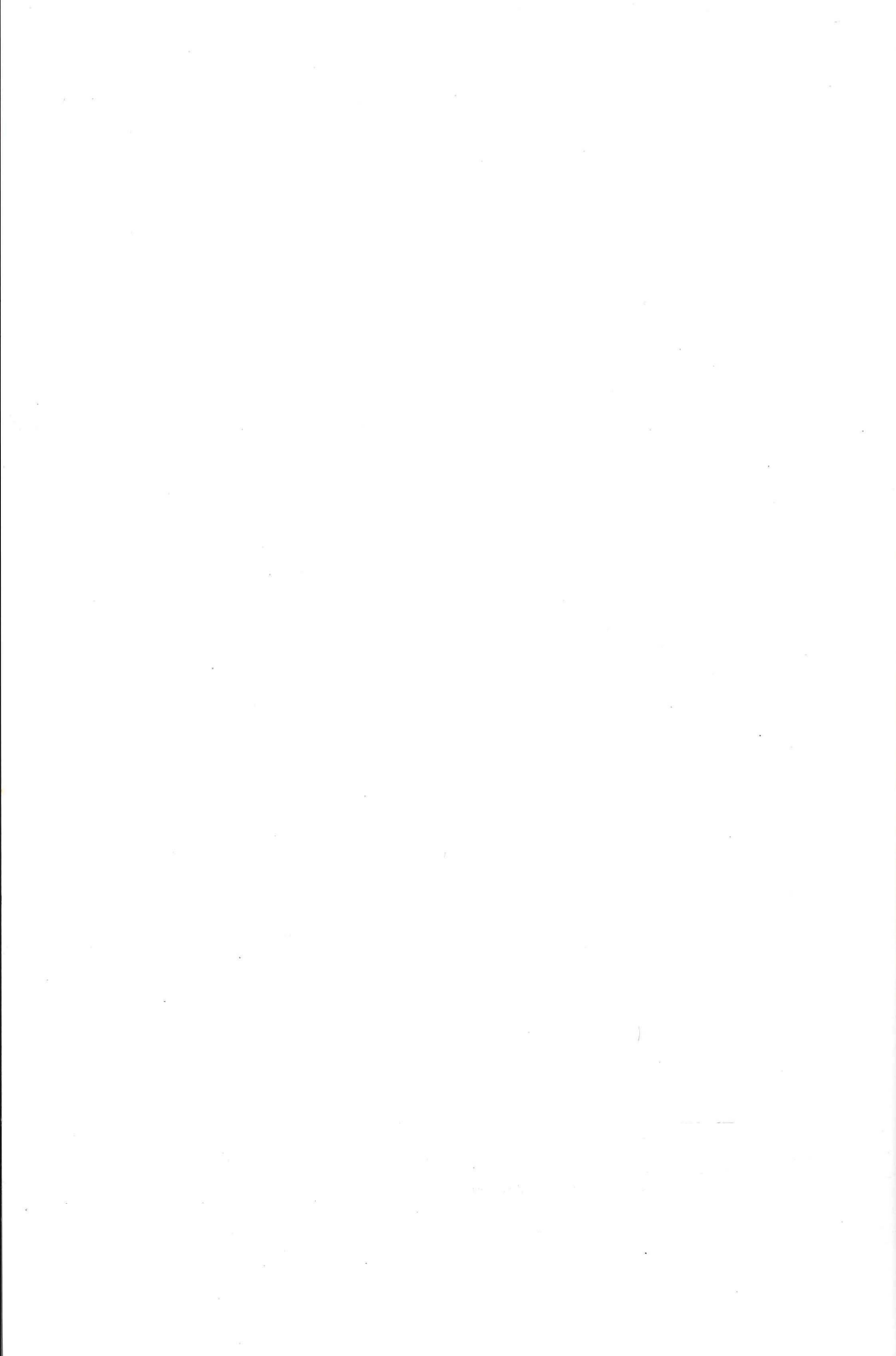


### 1.3 LOS COLORES DE LA NATURALEZA

En esta Sección apreciaremos algunos colores que la naturaleza nos ofrece a través de sus plantas: flores, frutos y hojas; de las algas, hongos y líquenes; de los organismos marinos y/o de río; de las aves y mariposas.

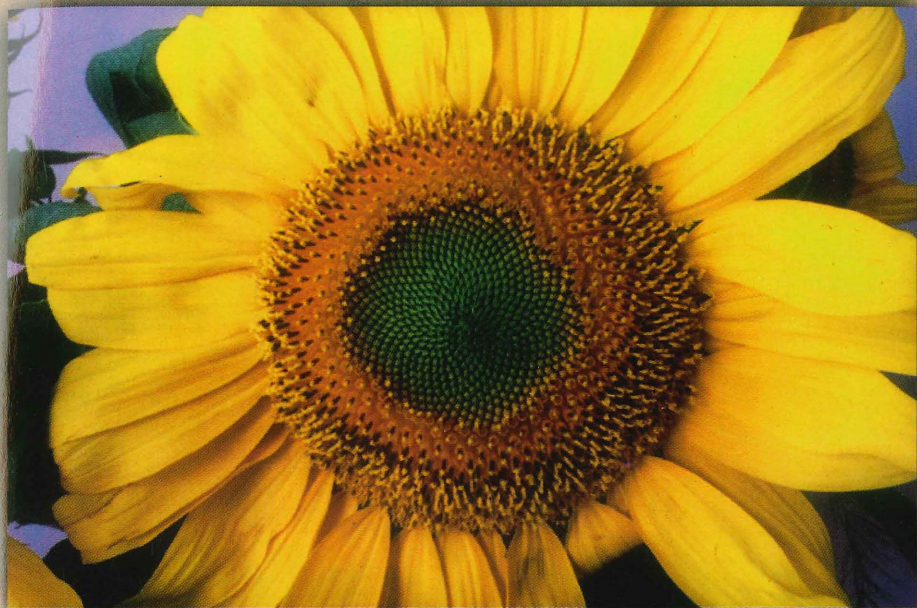
#### REFERENCIAS

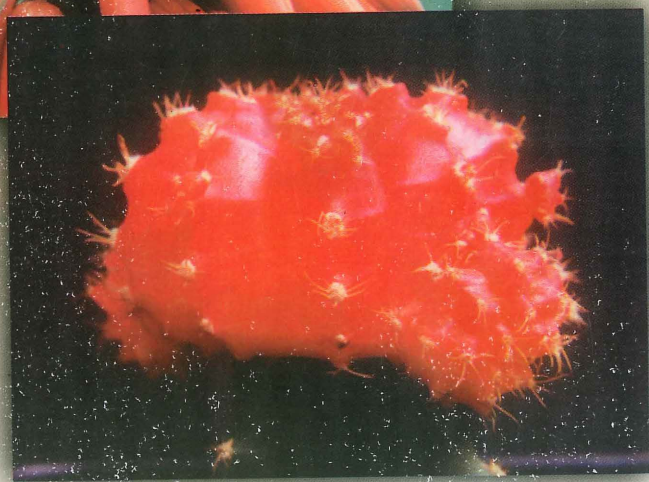
1. Tayofa, A., García, F. (1993) Colorantes. En *Biotecnología Alimentaria* (García, M., Quintero, R., López, A., eds.), Ed. *Limusa*, México.
2. Hendry, G.A.F. (1992) Natural Pigments in Biology. En *Natural Food Colorants* (Hendry, G.A.F., ed.), *Blackie and Son Ltd., Glasgow and London*, p 1-38.
3. Goodwin, T.W. (1980) Carotenoids. En *Secondary Plant Products* (Bell, E.A., Chartwood, B.V., eds.), *Springer Verlag*, Berlin, p 257-287.
4. Sequin-Frey, M. (1981) *J. Chem. Ed.*, 55, 301-305
5. Wouters, J., Rosario, N. (1992) *J. of the American Institute for Conservation*, 31, 237-255.
6. Roquero, A., Córdova, C. (1981) *Manual de Tintes de Origen Natural para Lana*. Ed. *del Serbal*, Barcelona, p 9-17.



LOS COLORES  
DE LA NATURALEZA



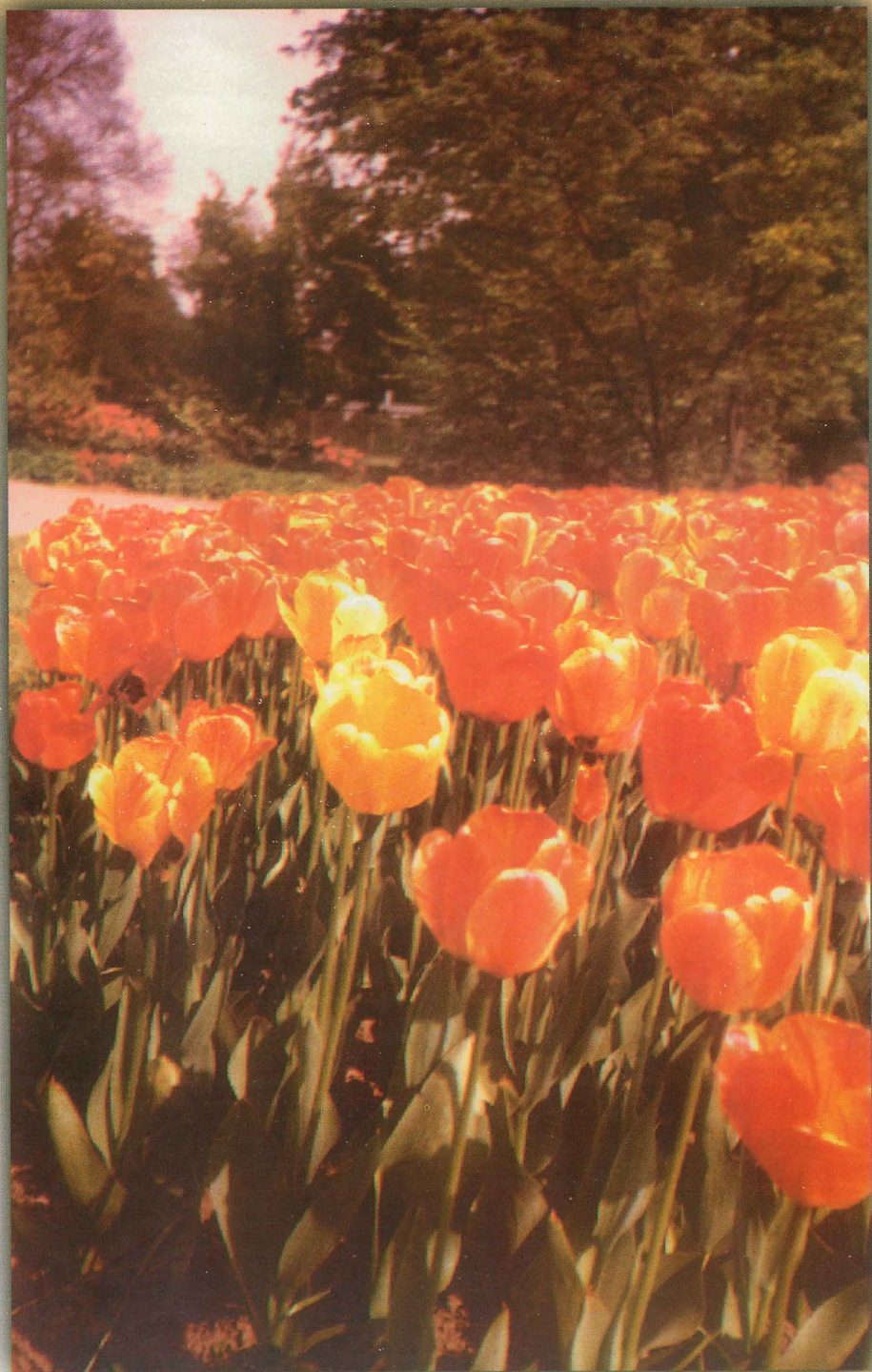








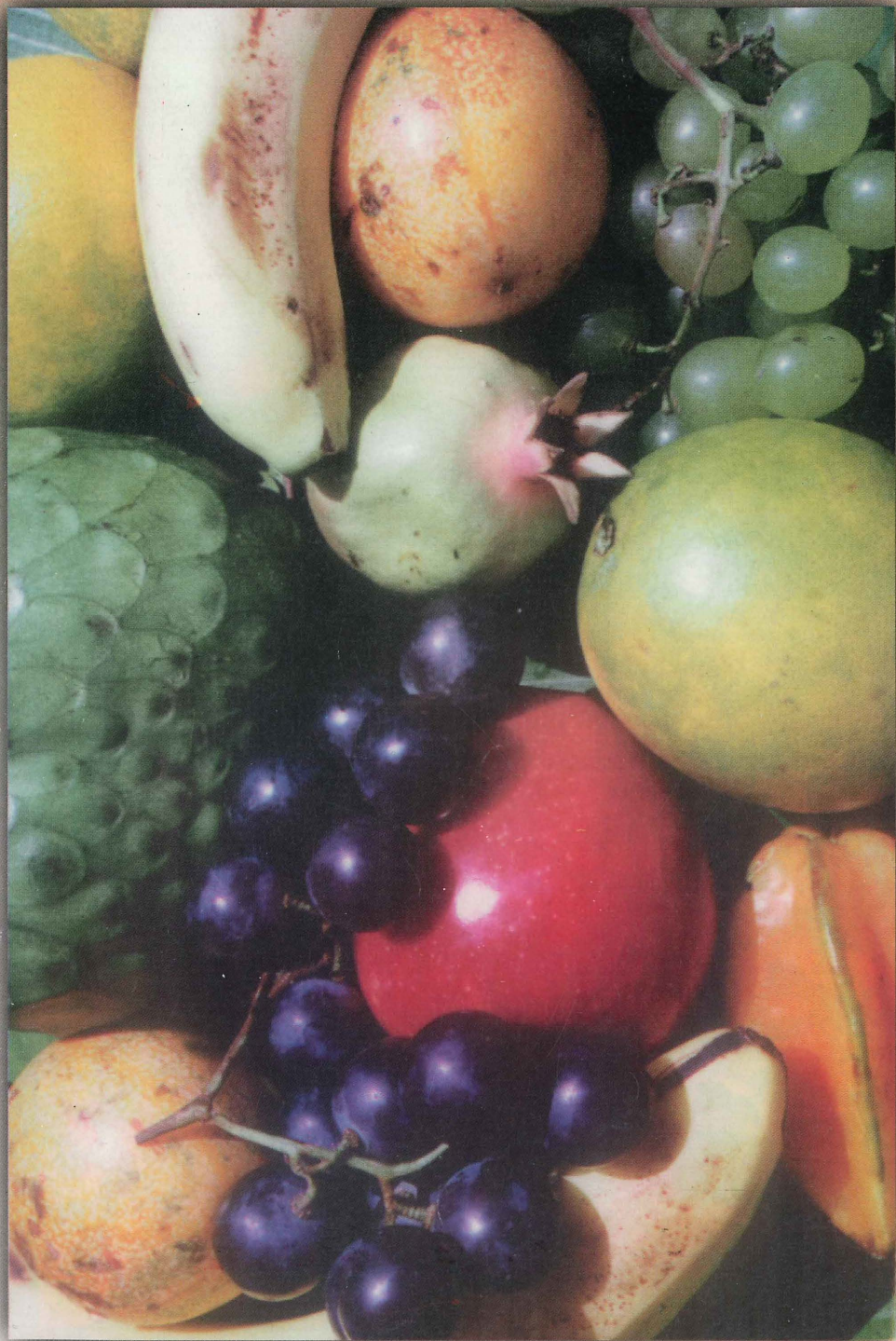


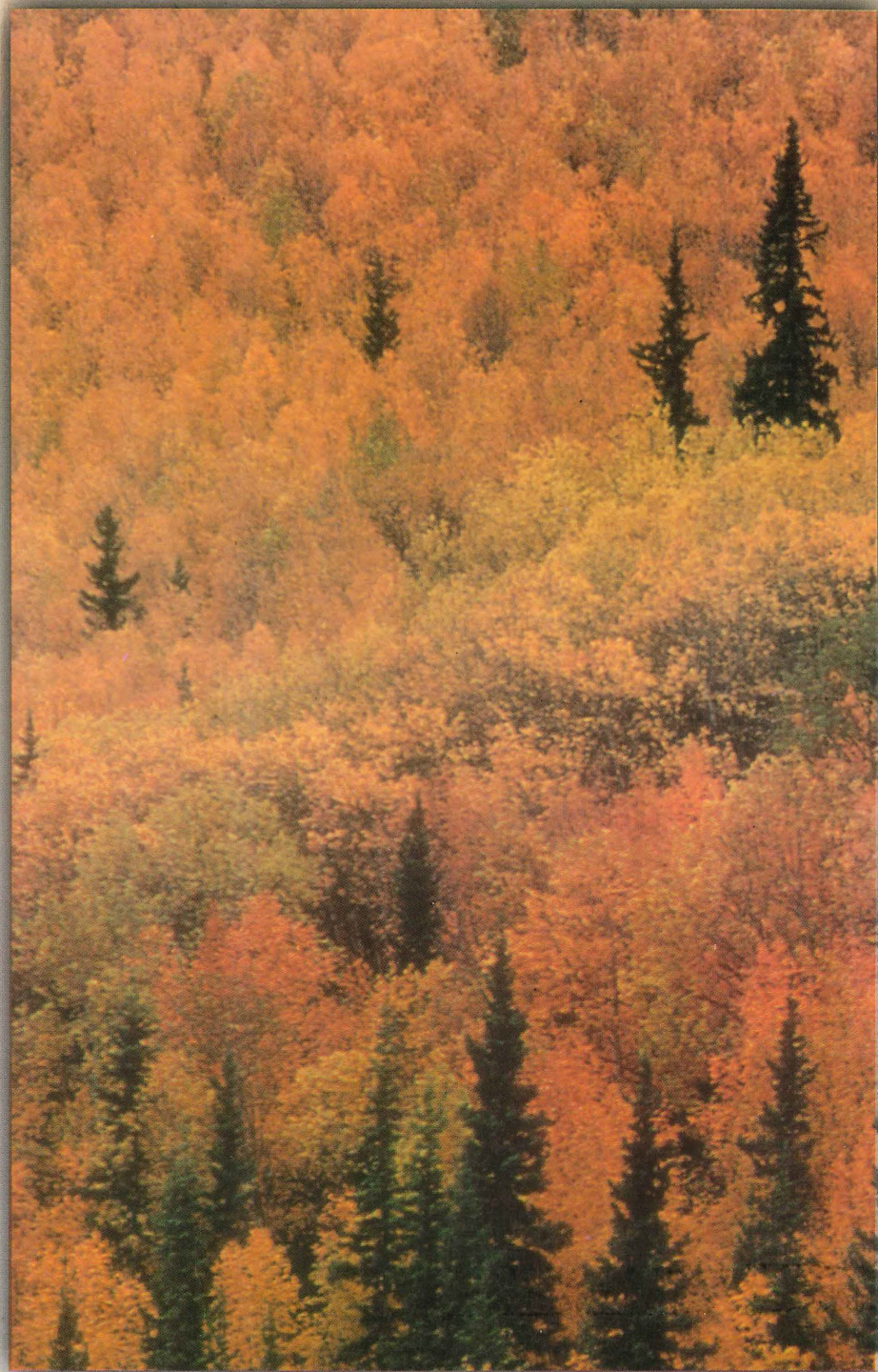








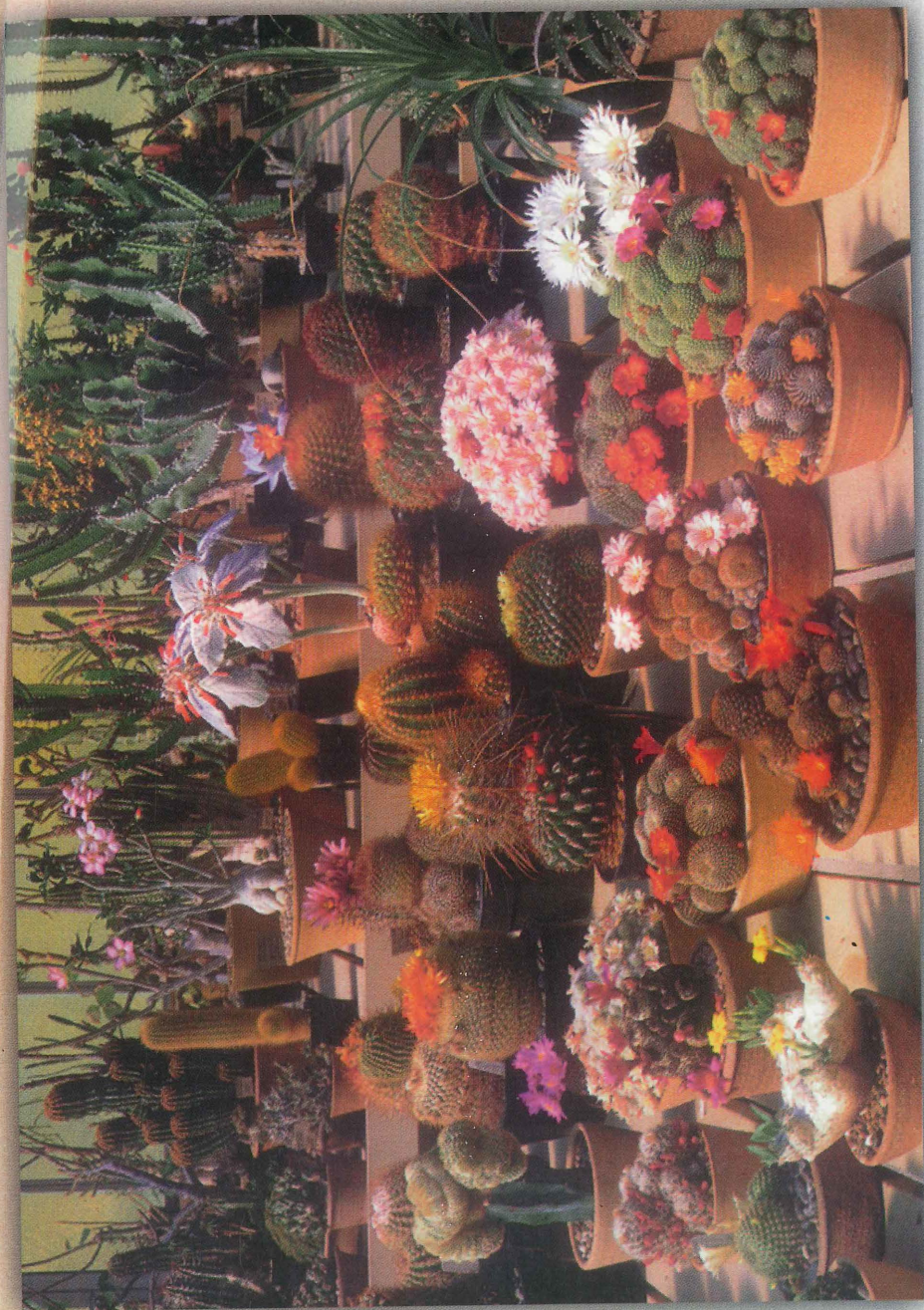








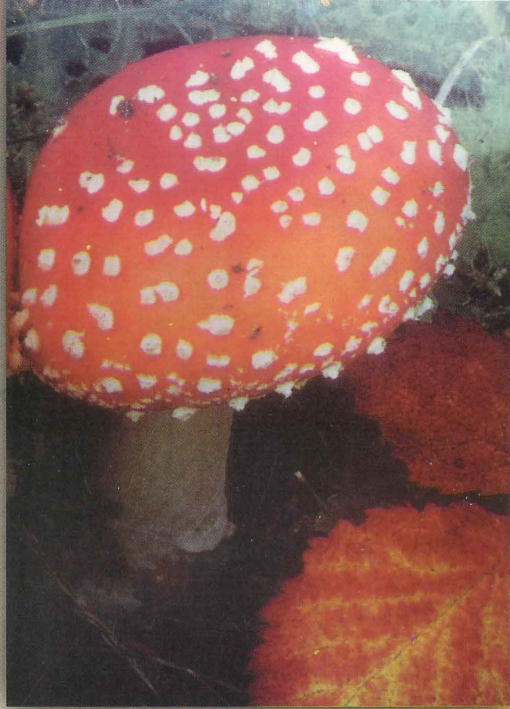












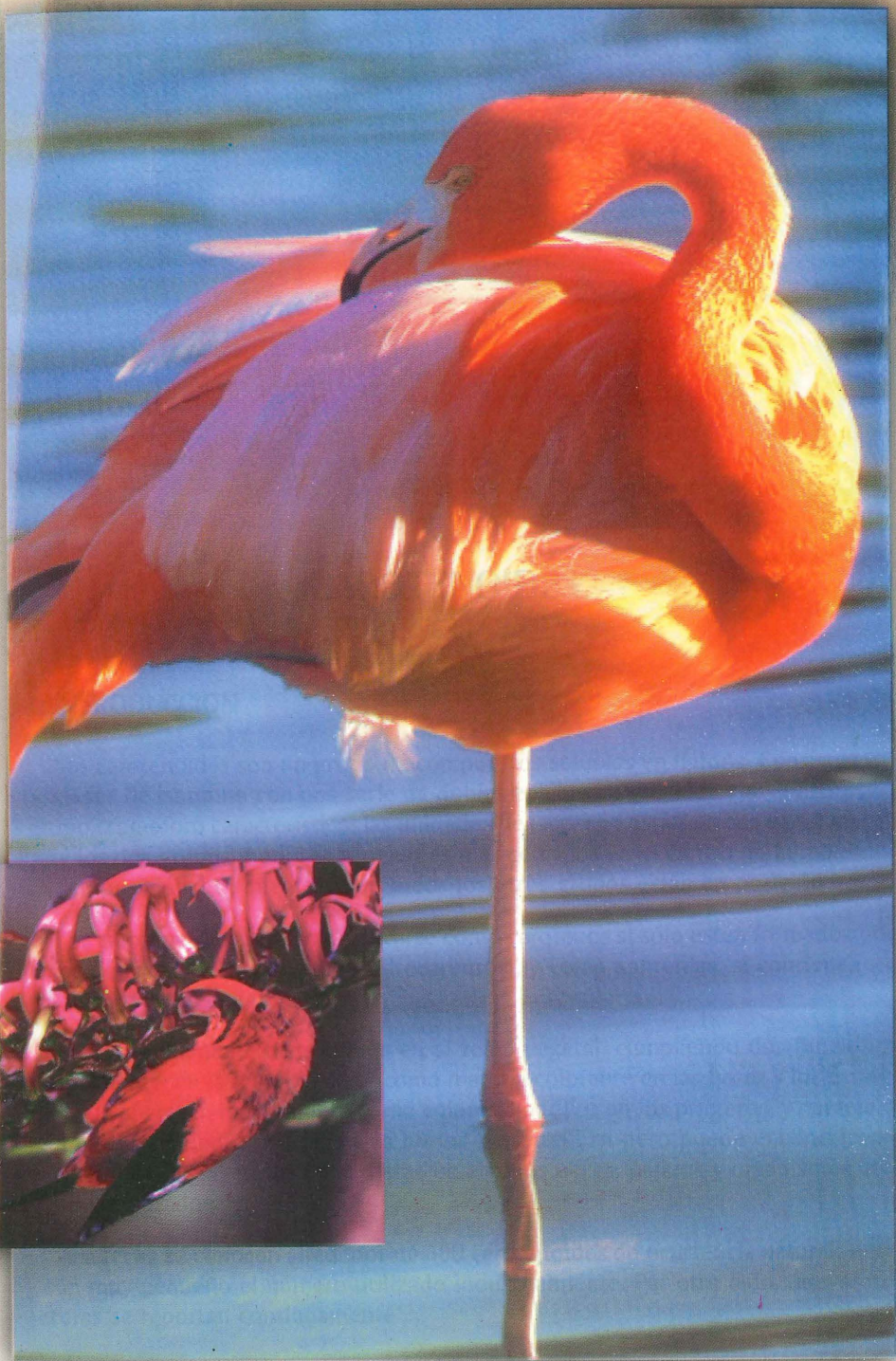














## Capítulo II

# CAROTENOIDES

### 2.1 INTRODUCCION

Los carotenoides son un grupo de compuestos solubles en lípidos. Consisten de 8 unidades de isopreno con una serie de dobles enlaces conjugados que constituyen el grupo cromóforo característico; las unidades de isopreno están unidas de tal manera que los dos grupos metilo sustituyentes más cercanos en el centro de la molécula están en posición 1,6, mientras que todos los otros grupos están en posición 1,5.

Los carotenoides pueden clasificarse como carotenos si sólo están formados por átomos de carbono e hidrógeno (hidrocarburos), y como xantófilas, si contienen alguna función oxigenada.

Están ampliamente distribuidos en el reino vegetal, cumpliendo dos funciones principalmente: en la fotosíntesis, y como materia colorante en las flores y los frutos, en los que aparecen mayormente como colores amarillos en los primeros, y naranja o rojizo en los segundos; los animales no los biosintetizan pero puede encontrarse presente –por ser ingeridos en la dieta– en algunos peces, pájaros y organismos marinos invertebrados.

A la fecha se conocen alrededor de 600 carotenoides de ocurrencia natural, siendo aún muy pequeño el número utilizado industrialmente. Por otro lado, nuevas estructuras se reportan continuamente<sup>1,2</sup>.

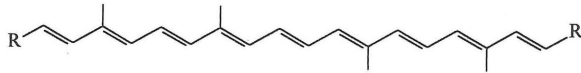
## 2.2 ESTRUCTURA Y NOMENCLATURA

La estructura base de los carotenoides es el licopeno (I), consiste en una cadena larga de 8 unidades de isopreno ( $C_{40}$ ) dando un sistema conjugado de dobles enlaces el cual es el grupo cromóforo responsable del color. La ciclación del licopeno en un extremo conduce al  $\gamma$ -caroteno (II), mientras que la ciclación en ambos extremos produce el  $\beta$ -caroteno (III). Otros isómeros del  $\beta$ -caroteno ( $\alpha$  y  $\epsilon$ -caroteno) sólo difieren en la posición de los dobles enlaces en las unidades cíclicas terminales (IV-V).

Para sistematizar la nomenclatura se utilizan letras griegas, que describen a los dos grupos terminales de la cadena insaturada base (Commission on Biochemical Nomenclature, 1971) (Fig. 2.1).

El esqueleto carbonado básico de un carotenoides ( $C_{40}$ ) puede ser modificado de diversas maneras; por ejemplo, son "nor-carotenoides" cuando un átomo de carbono ha sido eliminado, mientras "seco-carotenoides" resulta de la fisión de un enlace carbón-carbón determinado y la adición del número apropiado de átomos de hidrógeno a cada grupo terminal creado (VI), "apo-carotenoides" es la denominación en aquellos casos que hay remoción de un extremo de la molécula base (o de ambos) (VII).

Los cambios en el nivel de hidrogenación se indican con los prefijos "dehido" e "dihido", en el primer caso describe la introducción de enlaces olefínicos (o acetilénicos



Tipos de grupos terminales  $C_9$

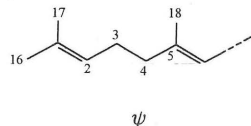
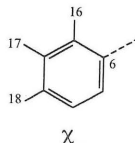
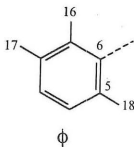
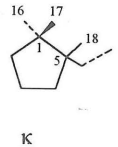
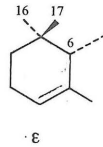
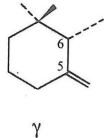
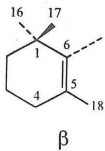
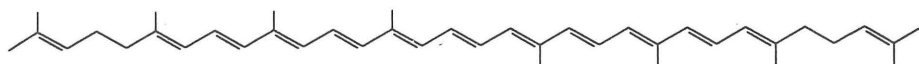


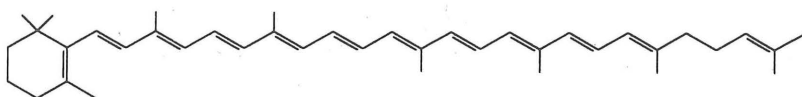
Fig. 2.1 Estructuras de los siete tipos de grupos terminales en los carotenoides

y alénicos), y en el segundo caso, la hidrogenación respectiva (VIII-IX). El prefijo “retro” indica el desplazamiento en una posición de todos los enlaces simples y dobles del sistema conjugado.

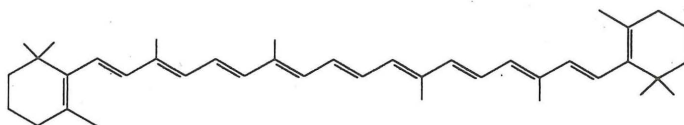
En el caso de existir funciones oxigenadas, éstas pueden ser ácido carboxílico (ácidos carotenoides), ésteres de ácidos carotenoides, aldehídos (carotenales), cetonas, alcoholes (carotenoles) o ésteres de carotenoles, epóxidos (VI,VII,X-XXII).



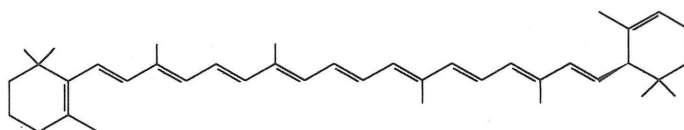
(I) lycopeno ( $\psi,\psi$ -caroteno)  
C.I. 75125



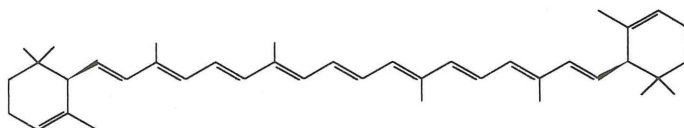
(II)  $\gamma$ -caroteno ( $\beta,\psi$ -caroteno)



(III)  $\beta$ -caroteno ( $\beta,\beta$ -caroteno)  
C.I. 75130  
C.I. Natural Yellow 26



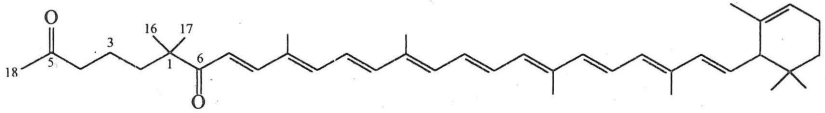
(IV)  $\alpha$ -caroteno ( $\beta,\epsilon$ -caroteno)



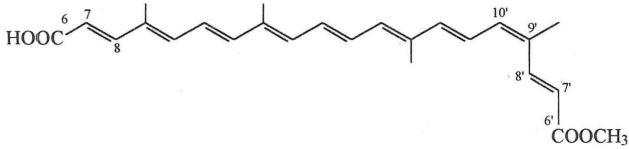
(V)  $\epsilon$ -caroteno ( $\epsilon,\epsilon$ -caroteno)

Fig. 2.2 Carotenoides

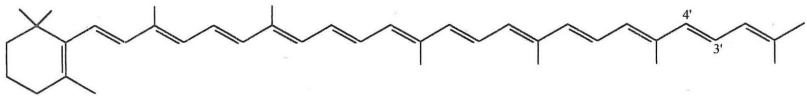
continúa Fig. 2.2



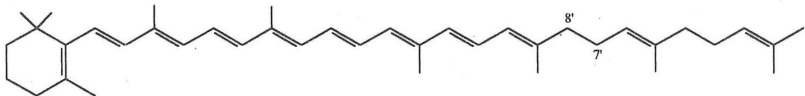
(VI) semi- $\alpha$ -carotenona  
(5,6-seco- $\beta$ ,  $\epsilon$ -caroteno-5,6-diona)



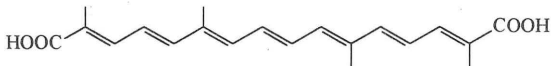
(VII) bixina  
(ac. 9'-cis-6, 6'-diapocaroteno-6'-ato de metilo-6-oico)  
C.I. 75120  
C.I. Natural Orange 4



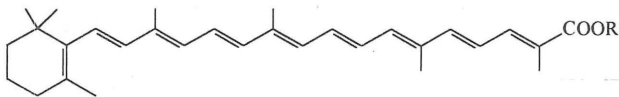
(VIII) toruleno (3',4'-dihidro- $\beta$ ,  $\psi$ -caroteno)



(IX)  $\beta$ -zeacaroteno (7',8'-dihidro- $\beta$ ,  $\psi$ -caroteno)

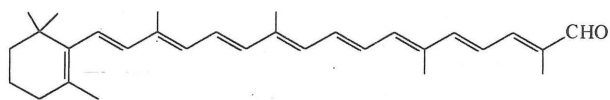


(X) crocetina  
(ácido 8,8'-diapocaroteno-8,8'-dioico)  
C.I. 75100

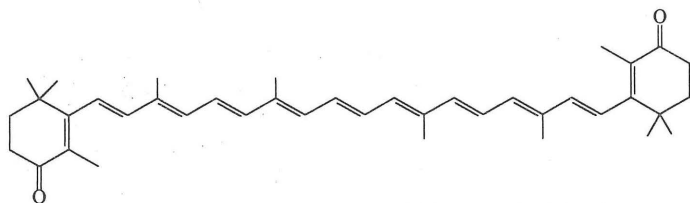


(XI) éster del ácido 8'-apo- $\beta$ -caroteno-8'-oico

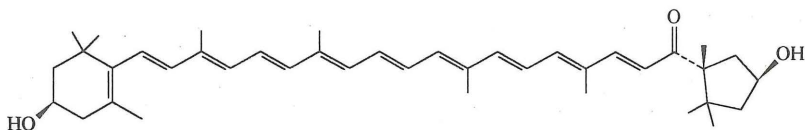
continúa Fig. 2.2



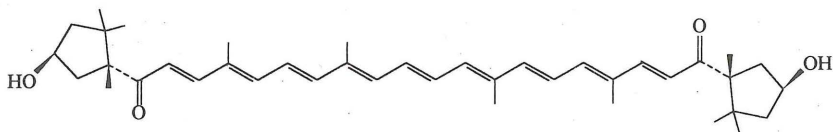
(XII) 8'-apo- $\beta$ -caroteno-8'-al



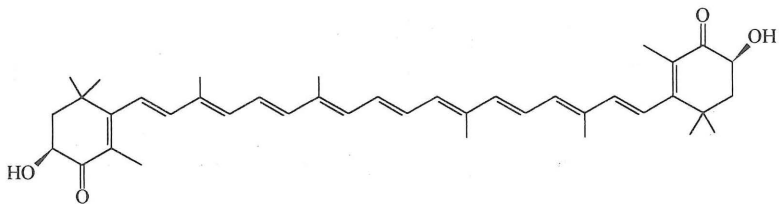
(XIII) cantaxantina ( $\beta$ , $\beta$ '-caroteno-4,4'-diona)  
C.I. Food Orange 8  
C.I. 70850



(XIV) capsantina (3,3'-dihidroxi- $\beta$ , $\kappa$ -caroteno-6'-ona)

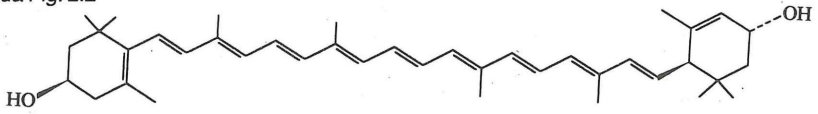


(XV) capsorrubina (3,3'-dihidroxi- $\kappa$ , $\kappa$ -caroteno-6,6'-diona)

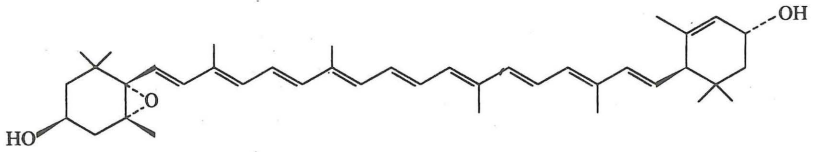


(XVI) astaxantina (3,3'-dihidroxi- $\beta$ , $\beta$ '-caroteno-4,4'-diona)

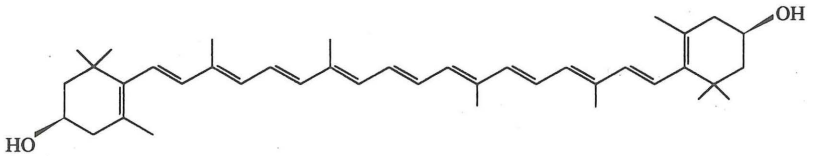
continúa Fig. 2.2



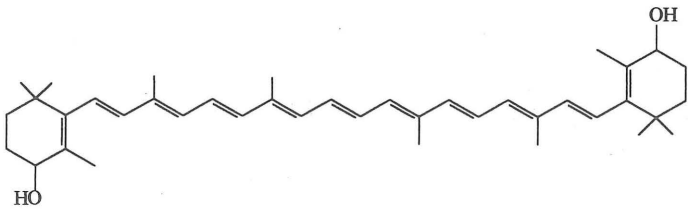
(XVII) luteína ( $\beta$ ,  $\epsilon$ -caroteno-3,3'-diol)



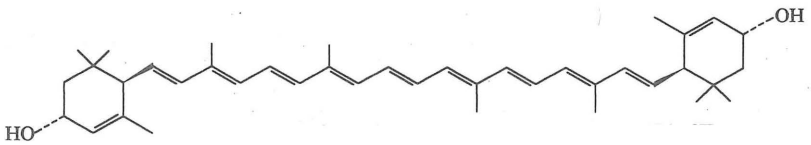
(XVIII) lutein-5,6'-epóxido



(XIX) zeaxantina ( $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno-3,3'-diol)

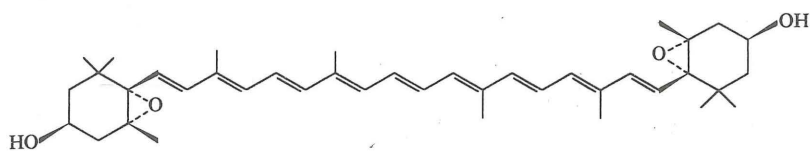


(XX) isozeaxantina ( $\beta$ ,  $\beta$ -caroteno-4,4'-diol)



(XXI) lactucaxantina ( $\epsilon$ ,  $\epsilon$ -caroteno-3,3'-diol)

continúa Fig. 2.2



(XXII) violaxantina  
(5,6,5',6'-diepoxi-5,6,5',6'-tetrahidro- $\beta$ , $\beta$ -caroteno-3,3'-diol)

En la Figura 2.2 se encuentran las estructuras respectivas<sup>3,4</sup>.

Debemos también considerar que debido al extenso sistema de dobles enlaces en las moléculas, los carotenoides pueden existir como isómeros geométricos (E,Z). Aunque la mayoría de los carotenoides existe en forma E (todo-trans), los isómeros Z pueden ser formados fácilmente de los isómeros E y encontrarse en pequeñas cantidades.

## 2.3 BIOSINTESIS

Los carotenoides son biosintetizados en las plantas superiores, algas, hongos y bacterias. Los animales no los pueden biosintetizar, aunque muchos son capaces de metabolizarlos y modificarlos estructuralmente cuando los ingieren.

En las siguientes figuras, se da el esquema general biosintético siguiendo la regla del isopreno (Fig. 2.3), el esquema general biosintético referido a los carotenoides (Fig. 2.4), la secuencia de reacciones de deshidrogenación involucrado en la biosíntesis de los carotenoides (Fig. 2.5), la biosíntesis de carotenos mono y bicíclicos a partir del licopeno (Fig. 2.6), el esquema para la hidroxilación de los carotenoides y para la formación de los diferentes grupos terminales (Fig. 2.7)<sup>5,6</sup>.

Para conocer detalles de estos procesos biosintéticos, así como de las reacciones y enzimas involucradas, se recomienda que el lector revise las diversas publicaciones disponibles.

## 2.4 EXTRACCION Y PURIFICACION

Existen diversos métodos de extracción; los dos que se señalan a continuación pueden utilizarse para tejidos verdes de plantas, así como para raíces, flores y frutos<sup>4,6,7</sup>.

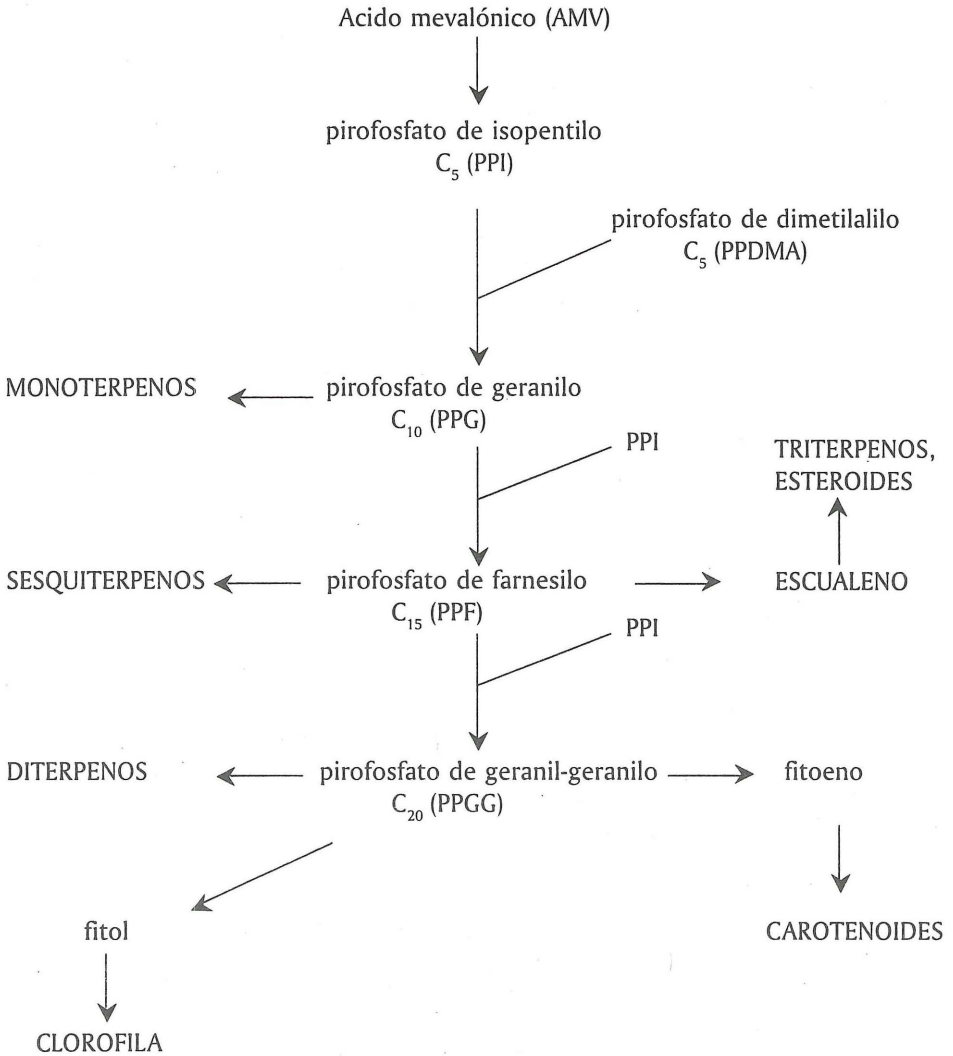


Fig. 2.3 Esquema biosintético "isoprenoide"

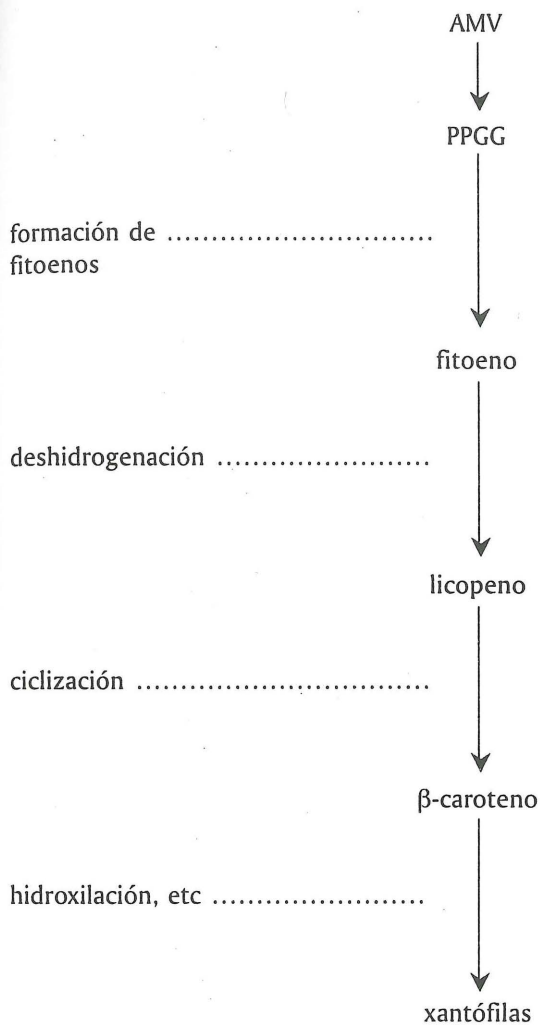


Fig. 2.4 Esquema de las etapas principales en la biosíntesis de carotenoides



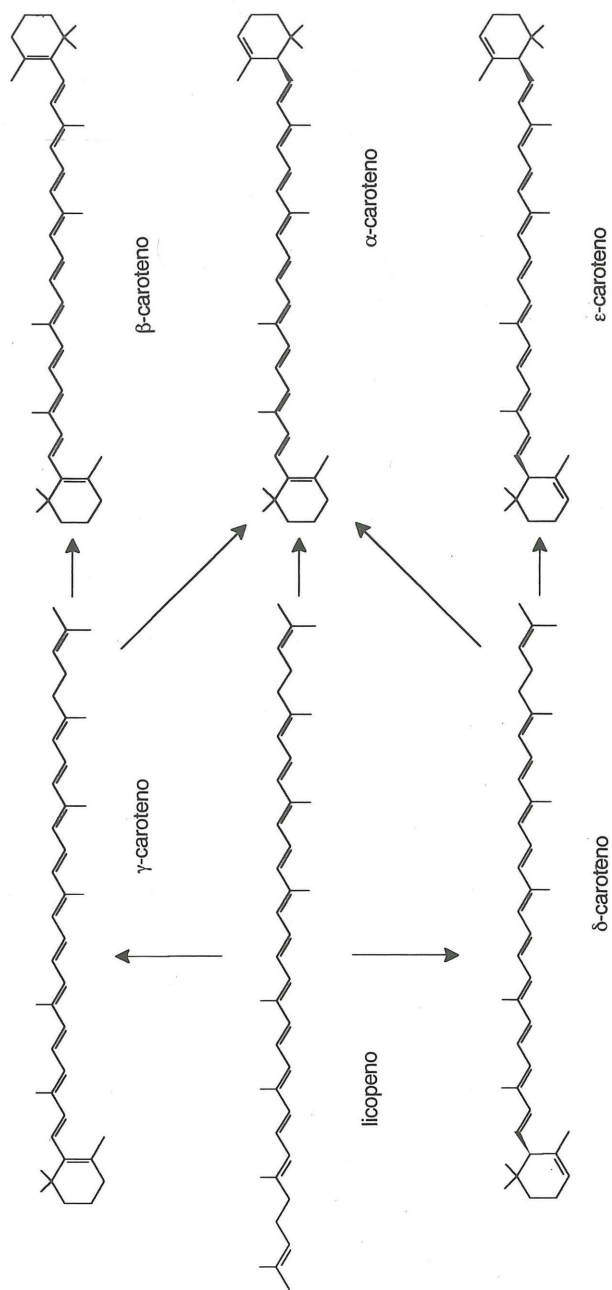
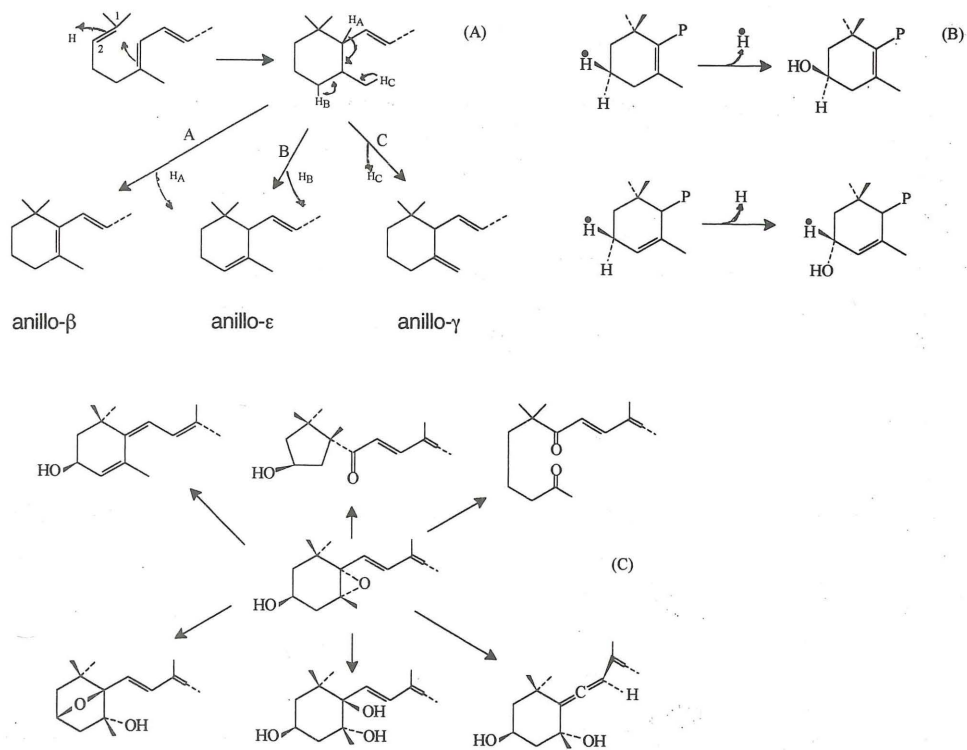


Fig. 2.6 Biosíntesis de carotenos monocíclicos y bicíclicos a partir del licopeno



**Fig. 2.7** (A) Mecanismo para la formación alternativa de anillos  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\epsilon$  del precursor acíclico, neurosporeno  
 (B) Hidroxilación estereoespecífica de carotenos  
 (C) Esquema de la formación de diferentes grupos terminales de los carotenoides de planta.

*Método 1:*

- cortar el material en trozos pequeños y homogenizarlo con acetona (metanol o etanol) por 1-2 minutos en una licuadora.
- filtrar el homogenizado.
- reextraer el residuo (2 ó 3 veces) con el mismo solvente, aunque una última extracción puede hacerse con éter etílico.
- reunir los extractos y concentrarlos en rotavapor.
- agregar un volumen igual de Et<sub>2</sub>O libre de peróxidos; agregar agua o solución de cloruro de sodio (formación de dos fases).
- separar las dos fases en un embudo de separación.
- lavar la fase acuosa con éter etílico, y la fase etérea con agua para remover la acetona.
- secar la fase etérea con sulfato de sodio anhidro (5-10 g por 100 mL de extracto), durante 60 minutos.
- filtrar y lavar el agente desecante con éter etílico.
- concentrar el extracto etéreo en rotavapor, si es posible con corriente de nitrógeno. Si hay agua remanente, remover agregando etanol absoluto y evaporarlo de la misma manera.
- el residuo es un extracto seco de carotenoide.

*Método 2:*

- cortar el material en trozos pequeños y tritularlo en un mortero con sulfato de sodio anhidro y con arena lavada, hasta tener una mezcla en polvo.
- extraer el polvo con acetona o mezcla de acetona - metanol o etanol, seguido de éter etílico.
- filtrar y repetir el proceso de extracción por 2 ó 3 veces.
- reunir los extractos y continuar con el procedimiento del Método 1.

Algunas veces es preferible separar previamente los hidrocarburos de las xantófilas, esto puede hacerse agitando un extracto en éter de petróleo con un volumen igual de MeOH 90%, así los dihidroxicarotenos son separados en la fase metanólica, dejando a los monohidroxicarotenos y los carotenos en la fase superior etérea. Un segundo tratamiento de la fase etérea con MeOH 90%, separa a éstos en las dos últimas clases, con la segunda fracción metanólica conteniendo los monohidroxicarotenos.

La saponificación puede realizarse de la siguiente manera:

- disolver la mezcla carotenoide en suficiente metanol o etanol y agregar KOH 60% (w/v) (1 mL por 10 mL de solución etanólica de la mezcla).
- calentar la mezcla alcalina por 5-10 minutos en la oscuridad, o en baño hirviente y con corriente de N<sub>2</sub>, o alternativamente la mezcla es dejada en la oscuridad a temperatura ambiente a 5°C, con corriente N<sub>2</sub>, durante 12 a 16 horas.
- agregar a la solución alcalina un volumen igual de éter etílico, agregar agua (2 ó 3 vol.); se separan dos fases, la fase etérea superior contiene los carotenoides.
- lavar la fase acuosa con éter etílico (3 veces) para extraer el resto de los carotenoides.
- lavar la fase etérea con agua para eliminar trazas de álcali.
- reunir las fases etéreas y secar con sulfato de sodio.
- los carotenoides ácidos permanecen en la fase acuosa alcalina, ésta se puede acidificar con ácido acético a pH 4 y extraer de la manera usual; lavar la fase etérea con agua, secar y evaporar.

**Tabla 2.1.** Solventes y grupos de carotenoides eluidos usando cromatografía de columna<sup>4</sup>

Sistemas de solventes	Carotenoides separados
éter de petróleo o	
éter de petróleo:éter etílico 99:1	carotenos
éter de petróleo:éter etílico 95:5	carotenos epoxidados
éter de petróleo:éter etílico 90:10	xantófilas esterificadas
éter de petróleo:éter etílico 80:20	monooxocarotenoides
éter de petróleo:éter etílico 1:1	dioxocarotenoides, monohidroxicarotenoides
éter etílico o	
éter etílico:etanol 95:5	dihidroxicarotenoides o xantófilas más polares
éter etílico:etanol 4:1	carotenoides glicosidados

Para la purificación por cromatografía de los carotenoides puede utilizarse alumina o gel de sílice, aunque en este último caso podría ocurrir isomerizaciones por su carácter ácido. Otros materiales, sustancias inorgánicas básicas, como el óxido de magnesio (MgO) y el hidróxido de calcio (Ca(OH)<sub>2</sub>), son también de gran valor en la purificación de carotenoides.

Para una cromatografía en columna, puede utilizarse como solventes de elución, según los diferentes grupos de carotenoides, los señalados en la Tabla 2.1.

Para una cromatografía de capa delgada se da algunos ejemplos en la Tabla 2.2.

El método HPLC está siendo muy utilizado tanto para un análisis cualitativo como cuantitativo, ya sea en fase normal o fase reversa. Los sistemas de elución en fase normal son generalmente hexano y propan-2-ol y sus mezclas; y en fase reversa son acetonitrilo, metanol, diclorometano, agua, y mezclas de ellos.

**Tabla 2.2.** Cromatografía de capa delgada (R<sub>f</sub>x100) de carotenoides<sup>7</sup>

	R <sub>f</sub> (x100) en sistema		
	1	2	3
<b>Hidrocarburos</b>			
β-caroteno	49	74	84
γ-caroteno	11	41	45
ε-caroteno	70	84	—
licopeno	01	13	15
	R <sub>f</sub> (x100) en sistema		
	4	5	6
<b>Xantófilas</b>			
luteína	10	35	56
zeaxantina	05	24	55
violaxantina	05	21	84
β-criptoxantina	54	75	07
capsantina	06	16	—

*Sistema:*

1. MgO activado; éter de petróleo (p.e. 90-110°C):C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (1:1)
2. MgO activado; éter de petróleo (p.e. 90-110°C):C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (1:9)
3. Sílicagel-Ca(OH)<sub>2</sub>(1:6); éter de petróleo:C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (49:1)
4. Fosfato magnesio; éter de petróleo (p.e. 40-60°C):C<sub>6</sub>H<sub>6</sub> (9:1)
5. Sílicagel; CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>:EtOAc (4:1)
6. Kieselguhr G impregnado con 8% solución triglicérido:MeOH:H<sub>2</sub>O (30:15:2)

En fase reversa el orden elución no es exactamente el opuesto al de fase normal y debe tenerse en cuenta que:

- los carotenoides no sustituidos se adsorben más fuertemente en el  $C_{18}$ , así en los dihidroxí-, es retenido más fuertemente aquel que tiene los dos  $-OH$  en un sólo extremo, que aquel que los tiene uno en cada extremo.
- los acíclicos tienen mayor  $t_R$  que los cíclicos conteniendo los mismos grupos funcionales.
- los que poseen mayor grado de insaturación son retenidos más fuertemente.

### Precauciones

Desde que los carotenoides son sensibles al oxígeno, luz, calor, ácidos y en algunos casos a álcalis, es indispensable tener en cuenta las siguientes precauciones durante su manipulación para evitar oxidaciones, isomerizaciones o generación de "artefactos":

- se debe prevenir la isomerización que podría producirse por la presencia de ácidos en el mismo tejido de la planta, adicionando un agente neutralizante como  $NaHCO_3$ , durante el proceso de extracción;
- los solventes a utilizar deben ser de bajo punto de ebullición, para que puedan ser removidos a temperaturas bajas, evitando así el calentamiento prolongado; deben estar libres de la presencia de ácidos, peróxidos y de otros agentes oxidantes;
- deben estar protegidos de la luz durante las cromatografías, evitándose el uso de adsorbentes ácidos como la gel de sílice o ácido silícico, así como de solventes ácidos (especialmente cloroformo; que usualmente contiene trazas de ácido hidroclicó);
- desde que son menos sensibles a los álcalis que a los ácidos, los primeros son utilizados rutinariamente para la saponificación de los ésteres carotenoides; y
- deben ser almacenados en la oscuridad, a  $-20^\circ C$ , en ausencia completa de oxígeno, ya sea al vacío o en una atmósfera inerte ( $Ar$  o  $N_2$ ).

## 2.5 IDENTIFICACION

Los espectros en la región Visible de los carotenoides son muy característicos entre 400 y 500 nm, con un pico mayor alrededor de 450 nm, y usualmente dos picos

menores, uno a cada lado. La posición exacta de los tres máximos varía de compuesto a compuesto y son suficientemente diferentes como para ser utilizados como medio de identificación.

Debe tenerse en cuenta algunas generalidades<sup>6,7</sup>:

- la adición de un doble enlace carbono-carbono sin otro cambio estructural resulta en un desplazamiento del máximo de absorción a mayor longitud de onda;

	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm en éter de petróleo		
neurosporeno (9 -C=C-)	414	439	467
licopeno (11 -C=C-)	446	472	505
3,4-didehidrolicopeno (13 -C=C-)	465	492	527
bisdehidrolicopeno (15 -C=C-)	480	510	540

- cuando un grupo final  $\psi$  de un carotenoide acíclico, cicla para formar un grupo final  $\beta$ , hay un desplazamiento del máximo de absorción a menor longitud de onda (cada uno de los carotenos siguientes tiene 11 -C=C-);

	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm en éter de petróleo		
licopeno ( $\psi, \psi$ -caroteno)	446	472	505
$\gamma$ -caroteno ( $\beta, \psi$ -caroteno)	437	462	494
$\beta$ -caroteno ( $\beta, \beta$ -caroteno)	(425)	448	475

- la introducción de uno o más grupos hidroxilo (o metoxilo), no produce cambios notorios en el espectro de absorción;

	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm en éter de petróleo		
$\beta$ -caroteno	(425)	450	477
3-OH- $\beta$ -caroteno	(425)	448	475
4-OH- $\beta$ -caroteno	(427)	451	475
3,3'-diOH- $\beta$ -caroteno	(426)	450	480
4,4'-diOH- $\beta$ -caroteno	(427)	450	478

- el efecto de introducir una función carbonilo en conjugación con una cadena de polieno, causa un desplazamiento a mayores longitudes de onda y pérdida de su

estructura fina, apareciendo una curva simétrica redondeada en vez del espectro general de tres picos;

- los máximos de absorción de los isómeros cis son generalmente 1 a 5 nm más bajos; en esos casos aparece el llamado "pico-cis", que es un pico subsidiario en la región ultravioleta; la diferencia en longitud de onda entre el "pico-cis" y la absorción a la mayor longitud de onda del isómero "todo-trans" es prácticamente una constante ( $142 \pm 2$  nm para carotenoides C40 con 10 a 11 dobles enlaces conjugados). Por otro lado se ha observado que la intensidad del "pico-cis" es mayor cuanto más central está el doble enlace cis en relación a los dobles enlaces conjugados.

Los carotenoides apolares usualmente son determinados en éter de petróleo o hexano, y aquellas de mayor polaridad como las xantófilas, en etanol. Los valores de  $\lambda_{\text{máx}}$  varían de acuerdo al solvente usado; los registrados en éter de petróleo, hexano y etanol son casi idénticos, pero los registrados en acetona son alrededor de 4 nm mayores, y en cloroformo o benceno de 10 a 12 nm mayores. Para una comparación es conveniente hacer las mediciones en más de un solvente.

Otros valores de absorción característicos se dan en la Tabla 2.3.

**Tabla 2.3.** Valores de absorción en el visible de carotenoides

	en éter de petróleo	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm	en $\text{CHCl}_3$
<b>Hidrocarburos</b>			
$\beta$ -caroteno	425,449,476		435,461,485
$\gamma$ -caroteno	437,462,494		446,475,509
$\epsilon$ -caroteno	416,440,470		
licopeno	444,470,502		458,484,518
<b>Xantófilas</b>			
luteína	421,445,474		435,458,485
zeaxantina	424,449,476		433,462,493
violaxantina	416,448,465		426,444,478
$\beta$ -criptoxantina	425,449,476		
capsantina	450,475,505		

El infrarrojo no es usual pero puede ser útil para detectar ciertas características estructurales en compuestos nuevos, lo mismo que la resonancia magnética nuclear y el espectro de masas, este último mayormente para determinar el peso molecular.

En las Tablas 2.4 a 2.6 se dan algunos valores espectroscópicos para el licopeno, capsantina<sup>8</sup> y 9'Z-6'-apo-licopen-6'-ato de metilo<sup>9</sup> y en la Figura 2.8 los espectros IR y UV-V del  $\beta$ -caroteno.

## 2.6 DISTRIBUCION <sup>4,10-12</sup>

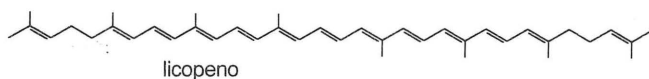
Ya mencionamos que los carotenoides están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Ocurren universalmente en el cloroplasto de los tejidos verdes pero su color está enmascarado por la clorofila; las hojas de todas las especies contienen generalmente los mismos carotenoides:  $\beta$ -caroteno ~25-30%, luteína ~45%, violaxantina ~15%, neoxantina ~15% y pequeñas cantidades de otros carotenoides.

También están ampliamente distribuidos en los tejidos no-fotosintéticos de las plantas, y son responsables de los colores amarillo, naranja y rojo de muchas flores y frutos, como por ejemplo, el licopeno del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), la capsantina de la paprika (*Capsicum annuum* L.), los 5,6- ó 5,8-epoxycarotenoides de la carambola, la crocetina en las flores de azafrán (*Crocus sativus*), y el  $\beta$ -caroteno en los frutos de las palmeras (*Elaeis guinensis*).

La presencia de carotenoides en otros órganos de la planta no es muy frecuente, aunque hay casos muy notables de su presencia, como en la zanahoria (*Daucus carota* L.) y el camote (*Ipomea batatas* (L) Lam.), en los cuales el  $\beta$ -caroteno es el carotenoide mayoritario, las semillas del achiote (*Bixa orellana* L.) que contiene grandes cantidades del apocarotenoide bixina, o de las semillas del maíz (*Zea mays* L.) con su contenido de zeaxantina.

En los hongos, como la *Cantharellus cinnabarinus* se encuentra la cantaxantina; en las algas verdes como el *Botryococcus braunii* se ha identificado el licopodieno, un derivado de licopeno altamente saturado.

En el reino animal la presencia de los carotenoides está particularmente asociada a los animales invertebrados aunque se ha encontrado en algunos pájaros y peces. En los pájaros, los carotenoides son responsables de los colores amarillo y rojo de las plumas, y son también importantes para el color de la piel en los pollos y en la yema de los huevos. Por ejemplo, los flamencos son alimentados con crustáceos que contienen cantidades sustanciales de oxocarotenoides lo que se manifiesta en el intenso color rosado-naranja característico de las plumas; de igual manera la dieta de los pollos incluye maíz y marigold, entre otros, que son fuentes naturales de zeaxantina y luteína, respectivamente.

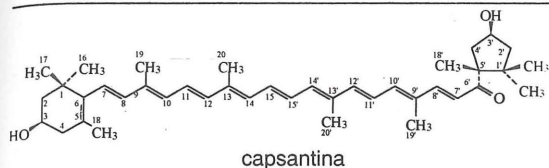
Tabla 2.4. Valores espectroscópicos para el licopeno<sup>8</sup>

UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$ , nm, 443, 472, 504

RMN-<sup>1</sup>H (220 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$ ppm

H-2	5,11	C-1	131,64
H-3 / H-4	2,11	C-2	124,12
H-6	5,95	C-3	26,83
H-7	6,49	C-4	40,30
H-8	6,25	C-5	139,30
H-10	6,19	C-6	125,94
H-11	6,64	C-7	124,87
H-12	6,35	C-8	135,54
H-14	6,23	C-9	136,15
H-15	6,63	C-10	131,64
		C-11	125,21
		C-12	137,46
		C-13	136,54
		C-14	132,71
		C-15	130,17
		C-16	25,66
		C-17	17,70
		C-18	16,97
		C-19	12,90
		C-20	12,81

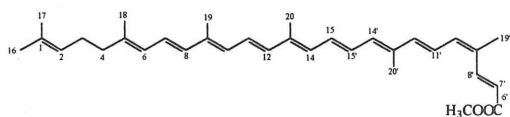
Tabla 2.5. Valores espectroscópicos para la capsantina<sup>8</sup>

UV-V  $\lambda_{\text{máx}}$ , nm, 486, 520

benceno

RMN- <sup>1</sup> H* (400 MHz), $\delta$ ppm		RMN- <sup>13</sup> C* (100,6 MHz), $\delta$ ppm	
Me-16'	0,840 (3H, s)	C-19	12,75
Me-16 y Me-17	1,075 (6H, s)	C-20	12,79
Me-17'	1,207 (3H, s)	C-19'	12,84
Me-18'	1,367 (3H, s)	C-20'	12,90
Me-18	1,736 (3H, s)	C-18'	21,39
Me-19'	1,957 (3H, s)	C-18	21,63
Me-19 y Me-20	1,974 (6H, s)	C-17'	25,16
Me-20'	1,989 (3H, s)	C-16'	25,95
H-4 $\alpha$	2,39 (1H, ddd, J=17,6 Hz ca 1,5)	C-16	28,80
H-4' $\alpha$	2,96 (1H, dd, J=15,5 y 9 Hz)	C-17	30,32
H-3 $\alpha$	4,00 (1H, m.a.)	C-4	42,69
H-3' $\alpha$	4,52 (1H, m)	C-1'	44,01
H-7 y H-8	6,13 (2H, s)	C-4'	45,49
H-10	6,16 (1H, d, J=11,6 Hz)	C-2	48,61
H-14	6,26 (1H, d, J=11,6 Hz)	C-2'	51,06
H-14'	6,35 (1H, d, J=11 Hz)	C-5'	59,01
H-12	6,36 (1H, d, J=15 Hz)	C-3	65,41
H-7'	6,45 (1H, d, J=15 Hz)	C-3'	70,44
H-12'	6,52 (1H, d, J=15 Hz)	C-7'	121,04
H-10'	6,55 (1H, d, J=11 Hz)	C-11'	124,13
H-11, H-11'		C-11	125,58
H-15, H-15'	6,6-6,8 (4H, m)	C-7	125,93
H-8'	7,33 (1H, d, J=15 Hz)	C-5	126,30
		C-15'	129,74
		C-10	131,27
		C-15	131,68
		C-14	132,39
		C-9'	133,69
		C-14'	135,24
		C-13'	135,93
		C-12	137,46
		C-13	137,60
		C-6	137,85
		C-8	138,51
		C-10'	140,63
		C-12'	141,97
		C-8'	146,86
		C-6'	202,82

\* No están reportados valores de dos carbonos y de algunos protones.

**Tabla 2.6.** Valores espectroscópicos para el 9'-Z-6'-apo-licopen-6'-ato de metilo <sup>9</sup>

 Et<sub>2</sub>O  
 UV-V  $\lambda_{\text{máx}}$ , 342, 360 (pico-  
 cis), 439h, 460, 493h

9'-Z-6'-apo-licopen-6'-ato de metilo

 RMN-<sup>1</sup>H (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

Me-20	1,98 (3H, s)	H-7'	5,90 (1H, d, J=15,3 Hz)
Me-20'	1,99 (3H, s)	H-6	5,96 (1H, d, J=10,9 Hz)
Me-19 y		H-10	6,18 (1H, d, J=11 Hz)
Me-19'	1,96 (6H, s)	H-8	6,25 (1H, d, J=14,9 Hz)
Me-18	1,82 (3H, s)	H-14	6,27 (1H, X parte de ABMX)
Me-17	1,61 (3H, s)	H-14'	6,31 (1H, M parte de ABMX)
Me-16	1,69 (3H, s)	H-12	6,36 (1H, d, J=14,0 Hz)
H-3	2,12 (2H, m)	H-10'	6,36 (1H, d, J=11,3 Hz)
H-4	2,22 (2H, m)	H-12'	6,41 (1H, d, J=14,9 Hz)
6'-COOCH <sub>3</sub>	3,76 (3H, s)	H-7	6,50 (1H, dd, J=10,9 y 14,9 Hz)
H-2	5,15 (1H, m)	H-15'	6,62 (1H, B parte de ABMX)
		H-11	6,66 (1H, dd, J=11,0 y 14,0 Hz)
		H-15	6,69 (1H, A parte de ABMX)
		H-11'	6,83 (1H, dd, J=11,3 y 14,9 Hz)
		H-8'	7,97 (1H, d, J=15,3 Hz)

 EI-MS 70 eV, m/z 472 M<sup>+</sup>

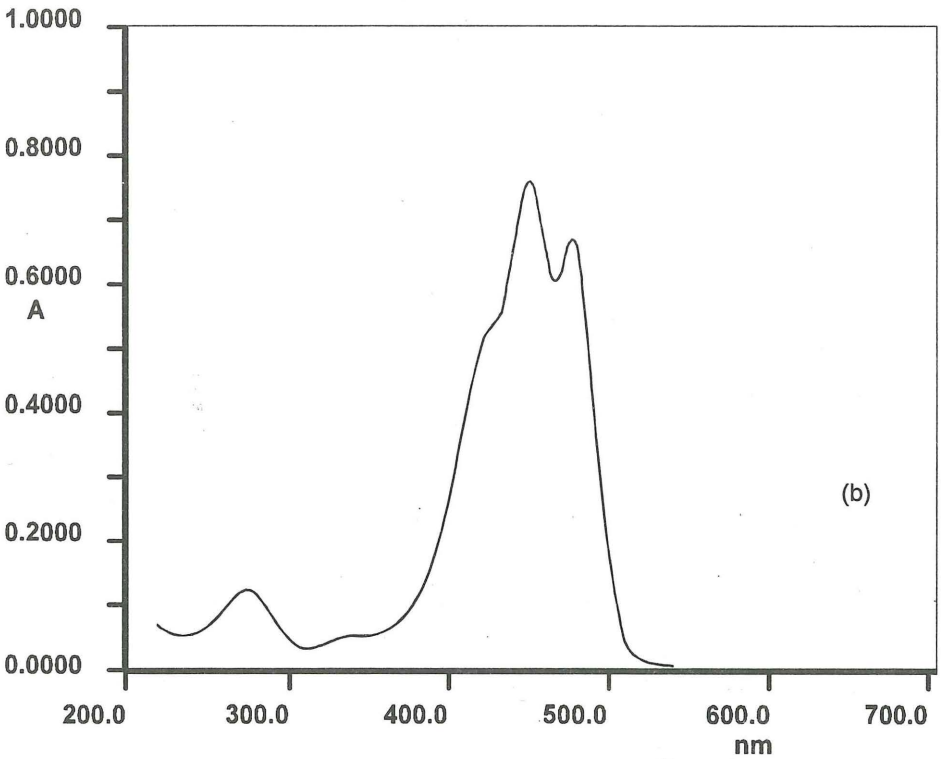
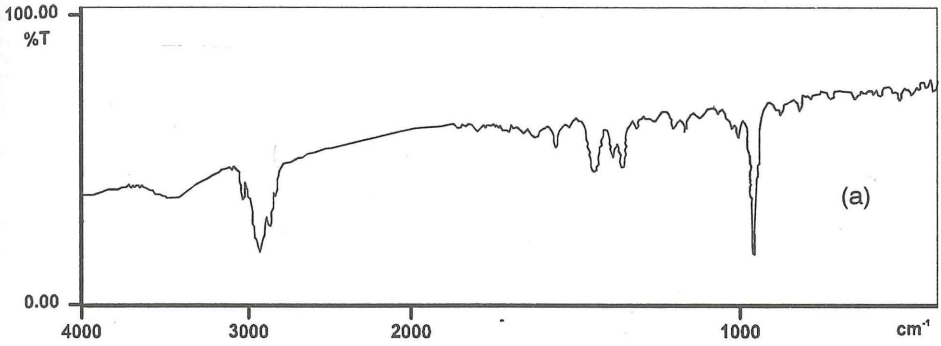


Fig. 2.8 Espectros infrarrojo (a) y ultravioleta-visible (b) del  $\beta$ -caroteno

En los peces están presentes en el salmón y la trucha (astaxantina y cantaxantina). En animales invertebrados marinos –camarones, cangrejos y langostas– la astaxantina y otros carotenoides relacionados están presentes en grandes cantidades, a menudo como complejos carotenoproteínas, los cuales son verdes, morado o azules en el animal viviente, pero son desnaturalizados cuando el animal es cocido, revelándose así el color rojo del carotenoide. Por ejemplo el caparazón de la langosta (*Homarus gammarus*), contiene la astaxantina-proteína de color azul,  $\alpha$ -crustacianina, cuyo  $\lambda_{\text{máx}}$  es 630 nm en contraste a la absorción a 480 nm de la astaxantina.

En el Krill antártico (*Euphausia superba*), se ha determinado la presencia de los carotenoides (3-4 mg/100 g) estando conformado principalmente por la astaxantina (~15-25%), astaxantina mono-esterificada (~30-40%) y diesterificada (~40-50%); en las gónadas de los moluscos *Patinopecten - yessoensis* (2,3 mg/100 g gónada) se encuentra principalmente pectenolona (73%), pectenoxantina (13%), diatoxantina (9%), astaxantina (1%)<sup>11,12</sup>.

## REFERENCIAS

1. Britton, G. (1989) Carotenoids and Polyterpenoids. *Natural Product Reports*. 6, 359-391.
2. Britton, G. (1991) Carotenoids and Polyterpenoids. *Natural Product Reports*. 8, 223-249.
3. Moss, G.P., Weedon, B.C.L. (1976) Chemistry of the Carotenoids. En **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments** (Goodwin, T.W., ed.). *Academic Press, London*. 1, p 149-219.
4. Britton, G. (1992) Carotenoids. En **Natural Food Colorants** (Hendry, G.A.F., Houghton, J.D., eds.). *Blackie, Glasgow*.
5. Britton, G. (1976) Biosynthesis of Carotenoids. En **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments** (Goodwin, T.W., ed.). *Academic Press, London*. Vol. 2, p 262-317.
6. Davies, B.H. (1976) Carotenoids. En **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments** (Goodwin, T.W., ed.). *Academic Press, London*. Vol. 2, p 38-165.
7. Harborne, J.B. (1984) **Phytochemical Methods**. *Chapman and Hall, London*.
8. Separatas "Curso Métodos Modernos de Resonancia Magnética Nuclear", dictado por el Prof. A. San Feliciano, U. de Salamanca, España; Lima-Perú, 1995.
9. Mercandante, A.Z., Steck, A., Rodriguez-Amaya, D., Pfander, H., Britton, G. (1996) Isolation of Methyl 9'-z-apo-6'-lycopenoato from *Bixa orellana*. *Phytochem*. 41, 1201-1203.
10. Goodwin, T.W., (1976) Distribution of Carotenoids. En **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments** (Goodwin, T.W., ed.). *Academic Press, London*. Vol. 1, p 225-257.

11. Yamaguchi, K., Miki, W., Toriu, N., Kondo, Y., Murakami, M., Konosu, S., Satake, M., Fujita, T. (1983) The Composition of Carotenoid Pigments in the Antarctic Krill *Euphausia superba*. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 49, 1411-1415.
12. Matsuno, T., Hiraoka, K., Maoka, T. (1981) Carotenoids in the Gonad of Scallops. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 47, 385-390.



## Capítulo III

# FLAVONOIDES

### 3.1. INTRODUCCION

Los flavonoides, uno de los grupos más numerosos y ampliamente distribuidos de constituyentes naturales, conocidos algunas veces como antoxantinas, aparecen frecuentemente revisados bajo diferentes aspectos en la literatura científica, especialmente en los últimos 30 años; así podemos citar las publicaciones de Geissman (1962)<sup>1</sup>, Mabry, Markham y Thomas (1970)<sup>2</sup>, Harborne, Mabry y Mabry (1975)<sup>3</sup>, Harborne (1975)<sup>4</sup>, Swain (1976)<sup>5,6</sup>, Wollenweber 1981<sup>7</sup>, Harborne y Mabry (1982)<sup>8</sup>, Markham (1982)<sup>9</sup>, Ingham (1983)<sup>10</sup>, Cody, Middleton, Harborne (1985)<sup>11</sup>, Tahara e Ibrahim (1995)<sup>12</sup>, Donnelly y Boland (1995)<sup>13</sup>, Harborne y Williams (1995)<sup>14</sup>, Barron e Ibrahim (1996)<sup>15</sup>, entre otras.

Como características generales de estos compuestos debemos señalar 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. Una clasificación preliminar del tipo de flavonoide en un extracto de planta, puede hacerse basada inicialmente en un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color; ésto, seguido por un examen cromatográfico directamente del extracto y/o del extracto hidrolizado. La separación puede hacerse por procedimientos cromatográficos, y la identificación de los componentes individuales por comparaciones cromatográficas y espectroscópicas con compuestos estándar o con la literatura. Compuestos nuevos requieren exámenes químicos y espectroscópicos más detallados.

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, mencionaremos la de los glucósidos de dihidrochalconas como edulcorantes, de la rotenona como insecticida, etc.

La acción farmacológica es también extensa y variada, son bien conocidas sus actividades contra la fragilidad capilar (bioflavonoides del género *Citrus*: rutina y derivados), dilatadores de las coronarias (proantocianidinas de *Crataegus*, *Arnica* y *Gingko*), espasmolítica (glicósidos de apigenina), antihepatotóxica (silimarina de *Silybum*), colerética, estrógena y diurética. Destacaremos asimismo la actividad antimicrobiana de flavonoides prenilados y otros fenoles y la acción fungitóxica de isoflavonas, como las de algunas especies de *Lupinus*<sup>16</sup>. Nuevas propiedades biológicas y farmacológicas de los flavonoides reportan Cody V, y col<sup>11</sup>.

### 3.2. ESTRUCTURA

Se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico (Fig. 3.1) 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.

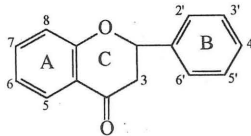


Fig. 3.1 Núcleo básico de un flavonoide

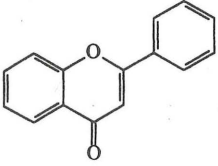
En la Figura 3.2 se puede observar ejemplos típicos para cada clase; las antocianinas pertenecen también a esta clase de compuestos pero son estudiadas aparte. Cada una de las clases de flavonoides, suele encontrarse bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y/o 7, siendo los azúcares más comunes la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa; es frecuente que diferentes azúcares se hallen unidos a una misma aglicona y en diferentes posiciones lo que hace mayor el número de glicósidos conocidos.

Ejemplos adicionales de otros flavonoides se indican en la Figura 3.3. En las referencias señaladas previamente puede encontrarse información del gran número de flavonoides existentes.

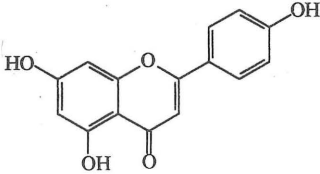
Los flavonoides se encuentran generalmente en mezclas como agliconas y/o glicósidos; en muchos casos, debido a la complejidad de la mezcla es más frecuente el

Núcleo básico

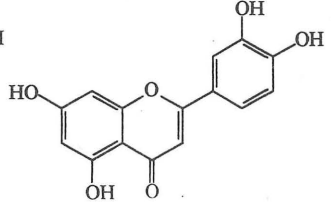
Algunos ejemplos



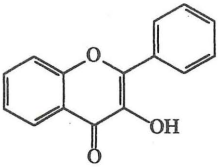
flavona



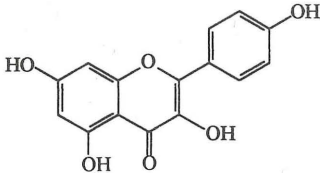
apigenina



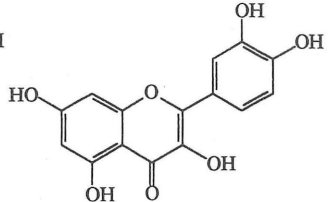
luteolina



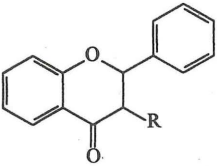
flavonol



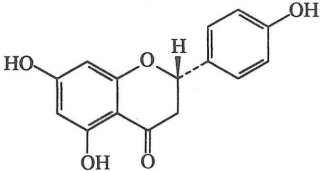
kaempferol



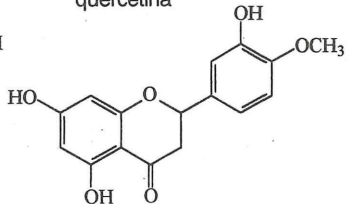
quercetina



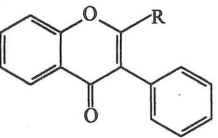
flavanona R=H  
flavanonanol R=OH



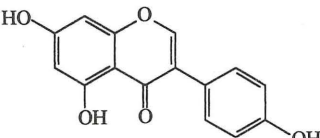
naringenina



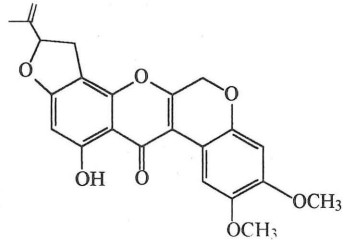
hesperetina



isoflavona R=H  
isoflavonol R=OH



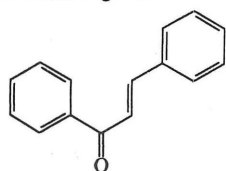
genisteina



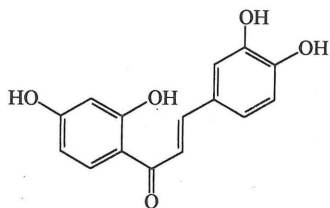
rotenona

Fig. 3.2 Clases de flavonoides: núcleo básico y ejemplos

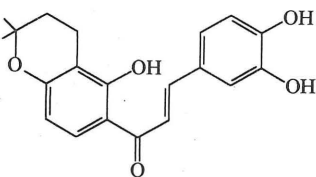
continúa Fig. 3.2



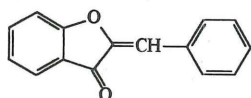
chalcona



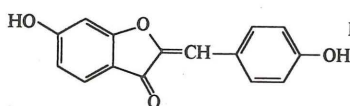
buteina



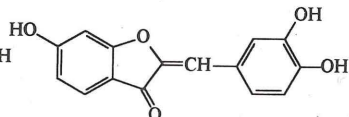
3,4-dihidroxi-lonchocarpina



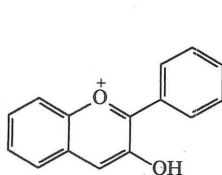
aurona



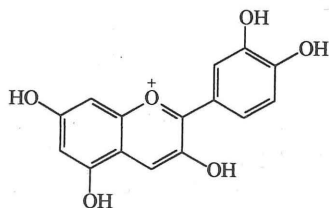
hispidol



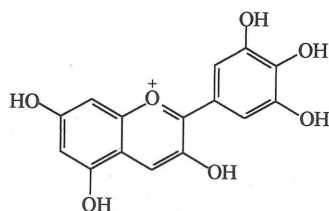
sulferetina



antocianidina



cianidina

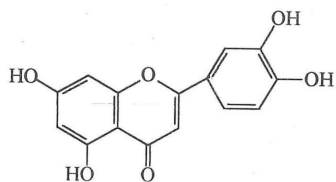


delfinidina

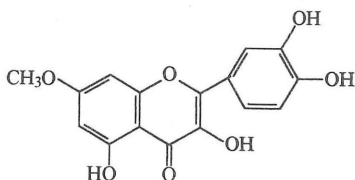
estudio de estos compuestos bajo la forma de agliconas para lo cual los extractos deben hidrolizarse previamente. Se hallan presente en todas las partes de las plantas, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles, y más restringidas en su ocurrencia las isoflavonas<sup>10</sup>, las chalconas y las auronas<sup>17</sup>. Al año 1990 se conocen alrededor de 3000 flavonoides, entre ellos 450 flavonoles, 300 flavonas, 150 isoflavonas, 60 chalconas, 20 auronas, etc.<sup>18</sup>

### 3.3. BIOSINTESIS

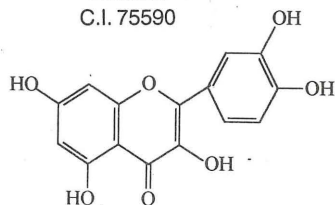
Los flavonoides se forman biogénicamente a través de la ruta del shikimato y del acetato-malonato<sup>9,19,20</sup> (Fig. 3.4), siendo la chalcona el flavonoide inicialmente formado, y a partir de la cual se derivan las otras clases por posteriores modificaciones que ocurren en varias etapas. Así mismo, cada una de estas clases puede sufrir poste-



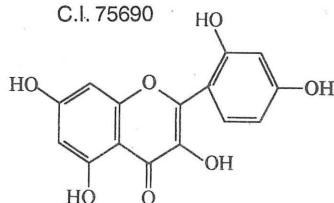
luteolina  
C.I. 75590



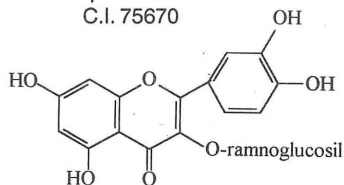
ramnetina  
C.I. 75690



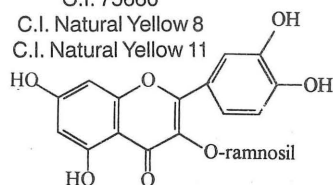
quercetina  
C.I. 75670



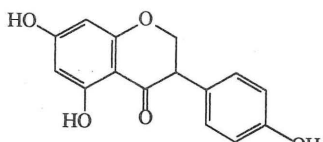
morina  
C.I. 75660  
C.I. Natural Yellow 8  
C.I. Natural Yellow 11



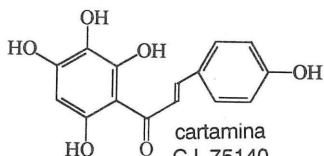
rutina  
C.I. 75730



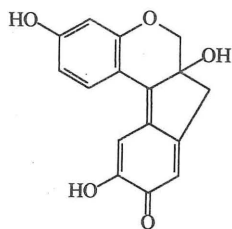
quercitrina  
C.I. 75720



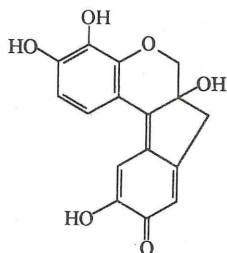
genisteína



cartamina  
C.I. 75140  
C.I. Natural Red 26



brazilina  
C.I. 75280



hematéina

Fig. 3.3 Otros ejemplos de flavonoides y de compuestos relacionados (C.I. Color Index)

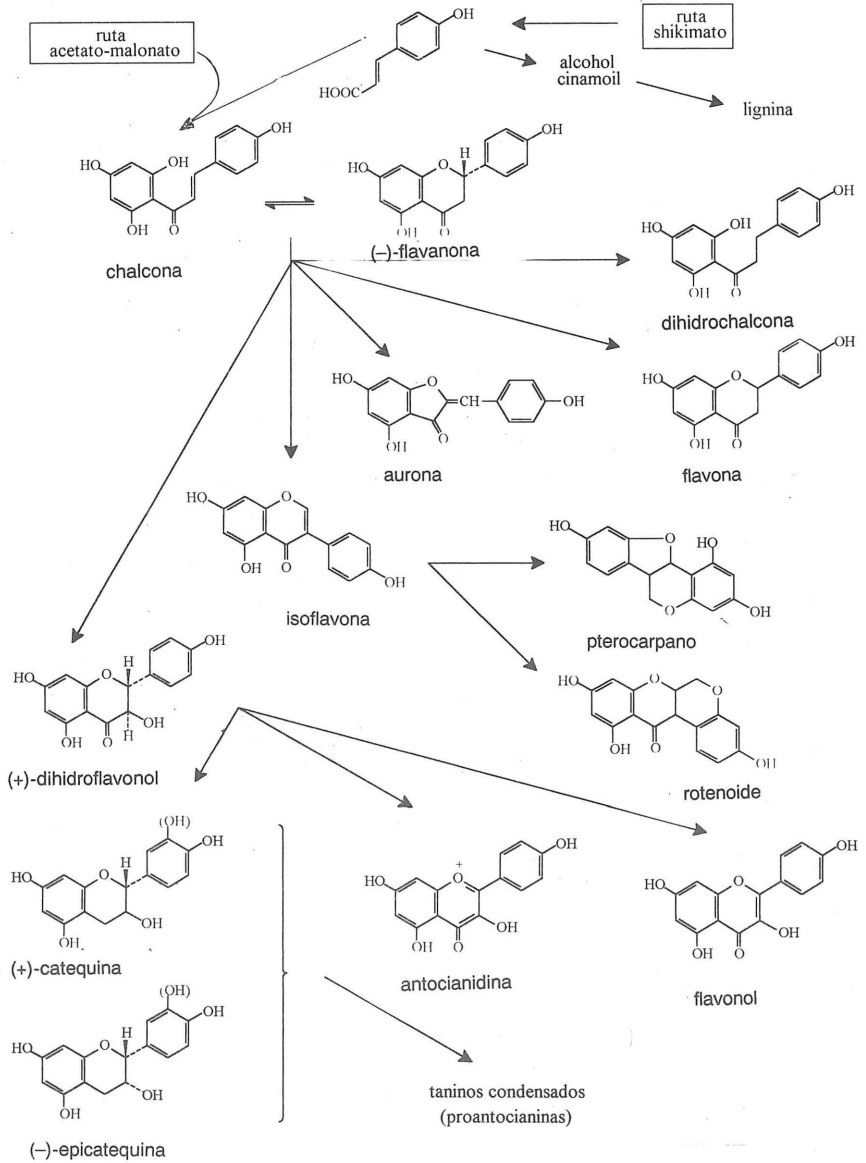


Fig. 3.4 Formación biogenética de flavonoides, ruta del shikimato y del acetato-malonato

rios metilaciones, isoprenilaciones o glicosidaciones de los grupos hidroxilos, metilaciones de grupos o-hidroxilos, dimerizaciones, etc.

### 3.4. EXTRACCION Y PURIFICACION

Los solventes empleados en la extracción de estos compuestos son muy variados y pueden ser desde muy polares como 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 de lipofílico a hidrofílico; ejemplo: éter de petróleo, benceno, éter etílico, acetato de etilo, alcoholes y finalmente agua, aunque en este último caso se presenta la desventaja de su alto punto de ebullición y presión de vapor que dificultan luego el ser removido rápida y completamente del extracto; por otro lado, podrían ser extraídos otros compuestos de alto peso molecular que usualmente interfieren en las subsiguientes etapas de purificación del flavonoide.

La reacción más usual para la detección de los flavonoides en un extracto de planta es la reacción de Shinoda: al extracto alcohólico incoloro o ligeramente amarillo se le coloca un pequeño trozo de magnesio y unas pocas gotas de HCl conc., el desarrollo inmediato de coloración es indicativo de la presencia de: flavonas y flavonoles (amarillo a rojo), flavanonoles (rojo a magenta), flavanonas (rojo, magenta, violeta, azul), isoflavonas (amarillo); isoflavononas, chalconas y auronas no dan coloración<sup>1,2,21,22</sup>.

Otras reacciones de color usuales son:

- Reacción con álcalis: los extractos acuosos pueden mostrar variaciones de color con el agregado de un álcali, si hay presencia de flavonas, flavanonoles e isoflavonas se ponen amarillas; flavanonas y flavonoles cambian de amarillo a naranja; chalconas de naranja a rojizo.
- 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 precipitado amarillo o anaranjado, y las chalconas, rojo oscuro o violeta.
- 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.
- Reactivo de Dimroth: solución de  $H_3BO_3$  en  $Ac_2O$ , las 5-hidroxiflavonas dan soluciones anaranjadas o rojas.
- 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

re la presencia de un derivado de catecol y de un color azul de un derivado de pirogalol.

En algunos casos puede realizarse pruebas directamente sobre el material; por ejemplo, si los pétalos blancos de una flor en presencia de vapores de amoníaco se ponen amarillos es indicativo de flavonas y/o flavonoles, si viran de amarillo a rojo hay presencia de chalconas y auronas.

Las técnicas cromatográficas usadas para la separación de flavonoides o su detección en un extracto de planta son también muy variadas en cuanto a las técnicas mismas, así como las condiciones en las cuales ellas puedan realizarse; no se pretende en este punto abarcar todas ellas sino dar pautas generales, las que deben ser ampliadas con literatura más especializada.

La cromatografía de papel, CP, es la técnica más antigua, y aún usada desde su introducción en 1948 por Bate Smith, utilizando sistemas de solventes como BAW (n-buOH:HOAc:H<sub>2</sub>O, 4:1:5, fase superior), TBA (t-buOH:HOAc:H<sub>2</sub>O, 30:10:3), CAW (CHCl<sub>3</sub>:HOAc:H<sub>2</sub>O, 30:15:2), Forestal (HOAc:H<sub>2</sub>O:HCl, 30:10:3). Sucesivas CP en los sistemas siguientes pueden ser usados para posteriores purificaciones de flavonoides previamente aislados: BW (n-buOH: H<sub>2</sub>O, 1:1, fase superior), 5HA (5% HOAc acuoso), BEW (n-buOH: EtOH:H<sub>2</sub>O, 4:1:2,2, fase superior). Los flavonoides pueden ser desorbidos de una CCDP con MeOH si se trata de agliconas, y con MeOH:H<sub>2</sub>O (1:1) en caso de glicósidos<sup>23</sup>.

Es recomendable para examinar la complejidad de la mezcla en un extracto crudo, correr una CP bidimensional, en la cual el primer sistema sería uno de los nombrados y el segundo el HOAc diluido (2-15%)<sup>2,21,22</sup>.

Una generalidad puede asumirse para las agliconas flavonoides al utilizarse sistemas con solventes alcohólicos y es que para una misma clase, el valor de R<sub>f</sub> es más bajo cuanto mayor es el número de grupos hidroxilo, y son en la mayoría de los casos más altos que los correspondientes glicósidos.

La cromatografía de capa delgada, CCD, ha sido utilizada con adsorbentes como celulosa, poliamida y sílicagel en sistemas como los que se indican en la Tabla 3.1.

La detección de los flavonoides en ambas cromatografías, de papel y de capa delgada, puede hacerse por el color que desarrollan en el Vis o en el UV, apareciendo como manchas fluorescentes azules, rosadas, naranjas, púrpuras y otras, las cuales se intensifican o cambian de color luego de su exposición a vapores de amoníaco (Tabla 3.2).

Es también común el uso de otros agentes cromogénicos como la vainillina-HCl (5% de vainillina en EtOH se mezcla con HCl conc. en la relación 4:1, justamente antes del uso), observándose coloraciones rojas o púrpura-rojizas en presencia de catequina

**Tabla 3.1.** Adsorbentes y sistemas de elución para la cromatografía de capa delgada de flavonoides

Sistemas	Flavonoides	Adsorbentes
TBA, BAW, 5-40% HOAc	glicósidos	celulosa
TBA, CAW, 50% HOAc ó 10-30% HOAc	agliconas polares agliconas no polares	celulosa celulosa
BPA (bz: Py:HCO <sub>2</sub> H, 36:9:5)	agliconas polares	sílicagel
CAA (CHCl <sub>3</sub> :Me <sub>2</sub> CO:HCO <sub>2</sub> H, 9:2:1)	agliconas	sílicagel
CHCl <sub>3</sub> :MeOH (15:1 a 3:1)	agliconas no polares	sílicagel
bz:Py:NH <sub>3</sub> (80:20:1 gt) <sup>24</sup>	agliconas	sílicagel
EtOAc:HCO <sub>2</sub> H:H <sub>2</sub> O:MeOH (10:2:2:1) <sup>25</sup>	agliconas no polares	sílicagel
EtOAc:Py:H <sub>2</sub> O:MeOH (16:4:2:1) <sup>26</sup>	glicósidos	sílicagel
EtOH:Py:H <sub>2</sub> O:MeOH (80:12:10:5) <sup>27</sup>	glicósidos	sílicagel
CHCl <sub>3</sub> :MeOH:H <sub>2</sub> O (65:45:12) <sup>28</sup>	glicósidos	sílicagel
CHCl <sub>3</sub> :HOAc (100:4) <sup>29</sup>	glicósidos	sílicagel
bz:HOAc (100:4)	glicósidos	sílicagel
CHCl <sub>3</sub> :HOAc:MeOH (90:5:5)	agliconas	poliamida
bz:MEK:MeOH (4:3:3) <sup>30</sup>	agliconas	poliamida
bz:petróleo:MEK:MeOH (60:26:7:7) <sup>31</sup>	agliconas	poliamida
MeOH:HOAc:H <sub>2</sub> O (18:1:1) <sup>32,33</sup>	agliconas o glicósidos	poliamida
H <sub>2</sub> O:n-buOH:Me <sub>2</sub> CO:HOAc (16:2:2:1) <sup>34</sup>	glicósidos	poliamida

y pro-antocianidinas, las flavanonas y dihidroflavonoles lo hacen más lentamente; el complejo difenilboriloxietilamina (Naturstoffreagenz A), mediante aplicación de una solución al 1% en MeOH revelan todos los 3',4'-dihidroxi flavonas y flavonoles como manchas naranjas (UV o Vis), mientras que los equivalentes 4'-hidroxi aparecen amarillas verdosas; mediante una solución acuosa o etanólica al 1% de cloruro férrico revela la presencia de los compuestos fenólicos, como ya lo indicamos antes<sup>9,35</sup>.

La cromatografía de columna, CC, permanece como una técnica muy usual para purificaciones preliminares y para separaciones a escala preparativa de grandes cantidades de flavonoides de extractos crudos de plantas. Los adsorbentes usuales son los mismos que para la CCD y últimamente se está usando gel de Sephadex tipos G y LH-

**Tabla 3.2.** Relación entre el color de la mancha y la estructura<sup>9</sup>

Color de la mancha a la luz UV		Posible tipo de flavonoide
Sin NH <sub>3</sub>	Con NH <sub>3</sub>	
púrpura	amarilla, amarilla verdosa o verde	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5-OH flavonas o flavonoles (3-O sustituidos) con 4'-OH</li> <li>• 5-OH flavanonas</li> </ul>
	sin cambio o con pequeños cambios	<ul style="list-style-type: none"> <li>• flavonas o flavanoles-3-O-sustituidos, con 5-OH pero sin 4'-OH libre</li> <li>• 6- ó 8- OH flavona y 3-O-flavonoles sustituidos, con 5-OH</li> <li>• isoflavonas, dihidroflavonoles y flavanonas con -5-OH</li> <li>• chalcona con 2'- ó 6'-OH, pero sin 2- ó 4-OH libre</li> </ul>
	celeste roja o naranja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 5-OH flavanona</li> <li>• chalcona con 2- y/o 4-OH</li> </ul>
celeste fluorescente	fluorescente	<ul style="list-style-type: none"> <li>• flavonas y flavanonas sin 5-OH libre</li> </ul>
	amarilla-verdosa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• flavonoles sin 5-OH libre y con 3-OH sustituido</li> </ul>
	sin cambio o con pequeños cambios	<ul style="list-style-type: none"> <li>• isoflavonas carente de 5-OH libre</li> </ul>
invisible	fluorescente celeste	<ul style="list-style-type: none"> <li>• isoflavonas carente de 5-OH libre</li> </ul>
amarilla, amarilla-opaca o naranja-fluorescente	sin cambio o pequeño cambio	<ul style="list-style-type: none"> <li>• flavonoles con un 3-OH libre y con o sin 5-OH libre</li> </ul>
amarilla fluorescente	amarilla o naranja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aurona con un 4'-OH libre y algunas chalconas 2- ó 4-OH</li> </ul>
amarilla-verdosa, azul-verdosa o verde	sin cambio o con pequeños cambios	<ul style="list-style-type: none"> <li>• aurona carente de 4'-OH libre y flavanona carente de 5-OH libre</li> </ul>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>• flavonoles con un 3-OH libre y con o sin 5-OH libre</li> </ul>

20. En la Tabla 3.3 se da una relación de sistemas de elución utilizados para agliconas o glicósidos con diferentes empaques.

**Tabla 3.3.** Adsorbentes y sistemas de elución para la cromatografía en columna de flavonoides

Sistemas	Flavonoides	Adsorbentes
CHCl <sub>3</sub> :MeOH:MEK:Me <sub>2</sub> CO (40:20:5:1) <sup>30</sup>	agliconas	poliamida
bz:petróleo:MEK:MeOH (60:26:3,5:3,5) <sup>31</sup>	agliconas	poliamida
MeOH:H <sub>2</sub> O (en diferentes proporciones) <sup>30,36</sup>	glicósidos	poliamida
Me <sub>2</sub> CO:H <sub>2</sub> O (en diferentes proporciones) <sup>37</sup>	glicósidos	poliamida
CHCl <sub>3</sub> :MeOH (en diferentes proporciones) <sup>38</sup>	agliconas	silicagel
CHCl <sub>3</sub> :MeOH:H <sub>2</sub> O (80:20:1,65:20: 2,80:18:2) <sup>28,29</sup>	glicósidos	silicagel
EtOAc:Me <sub>2</sub> CO:H <sub>2</sub> O (25:5:1) <sup>28</sup>	glicósidos	silicagel
H <sub>2</sub> O <sup>39</sup>	glicósidos	Sephadex G-10
H <sub>2</sub> O-Me <sub>2</sub> CO (8:2, 6:4) <sup>33</sup>	glicósidos	Sephadex G-25
MeOH <sup>40</sup>	glicósidos	Sephadex LH-20
MeOH:H <sub>2</sub> O (en diferentes proporciones) <sup>40</sup>	glicósidos	Sephadex LH-20
CHCl <sub>3</sub> :MeOH (9:1) <sup>38</sup>	glicósidos	Sephadex LH-20
Me <sub>2</sub> CO:MeOH:H <sub>2</sub> O (2:1:1) <sup>37</sup>	glicósidos	Sephadex LH-20

En el campo de los flavonoides el HPLC ha sido bastante utilizado por ser una técnica precisa y sensible el cual produce resultados en minutos comparado a los procedimientos clásicos que requieren días o semanas, además de grandes cantidades de material. Su aplicación ha sido para comprobar la pureza de un compuesto, para su determinación cuantitativa y para separaciones a pequeña escala.

La mayor parte de las separaciones por HPLC se han realizado utilizando columnas llamadas de fase reversa RP, ya que la fase estacionaria es menos polar que la fase móvil, de esta forma los solutos más polares poseen tiempos de retención más cortos

que los solutos menos polares; así, en la separación de mezclas complejas de flavonoides, los glicósidos eluirán primero, seguido por las agliconas generalmente en orden de polaridad decreciente. Los sistemas más usados son mezclas de  $\text{CH}_3\text{CN}:\text{H}_2\text{O}$  ó  $\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  conteniendo pequeñas cantidades de HOAc. Algunas columnas RP usuales son Lichrosorb RP-18 ó RP-8,  $\mu$ -Bondapak  $\text{C}_{18}$ , Zorbax  $\text{C}_8$ .

La primera aplicación del HPLC al análisis de flavonoides fue publicada por Ward y Pelter en 1974<sup>41</sup>. Posteriormente Wulf y Nagel<sup>42</sup> estudiaron los efectos de la estructura y de los solventes en los tiempos de retención en una docena de flavonoides. Otras interesantes publicaciones son las de Kingston<sup>43</sup> sobre la aplicación de HPLC a flavonoides y otros metabolitos secundarios; Casteel y Van Sumere<sup>44</sup> en la determinación de tiempos de retención de 141 flavonoides desde agliconas hasta triglicósidos; Daigle y Conkerton<sup>45,46</sup> que trata de la aplicación a 34 flavonoides y hace una revisión de los análisis realizados al año 1983 con más de cien citas bibliográficas, y Rouseff y Ting<sup>47</sup> sobre la cuantificación de flavonas metoxiladas en jugo de naranja. Aplicaciones de HPLC han sido hechas también para el análisis de flavonoides en frutos cítricos, hojas de tabaco, manzanilla, soya, tomates y otros.

Un rango amplio de combinaciones empaque/solvente han sido reportados en la literatura de flavonoides, y una revisión de éstos han sido publicadas por Kingston<sup>43</sup>, y por Daigle y Conkerton<sup>46</sup>; Fondi y col. han estudiado el comportamiento por HPLC de 16 flavonoides en diferentes sistemas de solvente<sup>48</sup>, así como el comportamiento comparativo de 18 flavonoides por HPLC y HPTLC (CCD de alta performance), ambos en fase reversa<sup>49</sup>.

Para la separación de agliconas no polares o débilmente polares se usa comúnmente columna de sílicagel (fase normal: Lichrosorb Si60,  $\mu$ -Porosil-, etc.) y sistemas de elución como heptano:isopropanol (60:40) y tolueno:EtOAc en diferentes proporciones; los glicósidos han sido separados por elución con  $\text{bz}:\text{CH}_3\text{CN}$  (85:40).

Todas las técnicas cromatográficas que hemos mencionado emplean una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida, ocurriendo a menudo adsorciones irreversibles o descomposiciones del soluto en la interfase líquido-sólido. Para evitar estas complicaciones del uso de soporte sólido, se han desarrollado varios soportes líquidos, que actúan por un mecanismo de partición dando lugar a las técnicas de cromatografía contracorriente CCC, como por ejemplo la DCCC (a la gota), RLCC (rotación locular), CCCC (centrífuga) entre ellas la HSCCC (alta velocidad). Estas técnicas han sido ampliamente utilizadas para todo tipo de compuestos, polares y no polares, la diferencia en su aplicación está en la elección de sistema de solventes<sup>50</sup>. En el caso de los flavonoides se han empleado sistemas como:  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}$  (7:13:8),  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{n-PrOH}$  (9:12:8:1),  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{H}_2\text{O}:\text{n-buOH}$  (10:10:6:1),  $\text{n-buOH}:\text{AcOH}:\text{H}_2\text{O}$  (4:1:5), entre otros.

### 3.5 IDENTIFICACION

Como ya se señaló, los flavonoides pueden detectarse en una CCD por el color que desarrollan en el Vis o en el UV; Geissman<sup>1</sup> y Markham<sup>9</sup> reportan la relación que existe entre los colores y la posible estructura del flavonoide, algunas de las cuales se indican en la Tabla 3.2.

Por otro lado, el espectro de absorción en el UV-V del compuesto aislado es útil también para determinar el tipo de flavonoide, así como su modelo de oxigenación. Esto último puede además ser mejor definido por el uso de reactivos de desplazamiento los cuales, como su nombre lo indica, provocan el desplazamiento de las bandas de absorción.

Los espectros de los flavonoides son determinados usualmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste de dos máximos de absorción en los rangos 240-285 nm (Banda II, BII) y 300-550 nm (Banda I, BI). Podría indicarse como característica que en dihidroflavonas, dihidroflavonoles e isoflavonas la banda I es de baja intensidad (más baja que la banda II). En la Tabla 3.4 se dan los rangos de los valores de absorción para las BI y BII de los diferentes tipos de flavonoides<sup>9</sup>.

La variación de estos rangos depende del modelo de hidroxilación y del grado de sustitución de los hidroxilos:

**Tabla 3.4.** Valor de absorción para las Bandas BI y BII de los diferentes tipos de flavonoides<sup>9</sup>

Banda II, nm	Banda I, nm	Tipo de flavonoide
250-280	310-350	flavonas
250-280	330-360	flavonoles (3-OH sustituido)
250-280	350-385	flavonoles (3-OH libre)
245-275	310-330h	isoflavonas (5-deoxi-6,7-dioxi)
275-295	300-330h	isoflavonas, dihidroflavonoles
230-270 (baja intensidad)	340-390	chalconas
230-270 (baja intensidad)	380-430	auronas
270-280	465-560	antocianidinas, antocianinas

- los cambios en la sustitución del anillo A tienden a ser reflejados en la banda II de absorción, mientras que alteraciones en las sustituciones de los anillos B y C tienden a ser más aparentes en la banda I;
- la oxigenación adicional (especialmente hidroxilación), causa generalmente un desplazamiento batocrómico de la banda correspondiente;
- la metilación o glicosilación, especialmente de 3, 5, 7 y 4'-OH, causa desplazamiento hipsocrómico de las bandas, no siendo dependientes de la naturaleza del azúcar en el caso de los glicósidos;
- la acetilación tiende a anular el efecto del grupo hidroxilo fenólico en el espectro;
- en flavonas y flavonoles, la presencia de o-hidroxilo en 3' y 4'-generalmente se evidencia por un segundo pico (algunas veces un hombro) en la banda II.

La influencia de la sustitución por grupos hidroxilos en los anillos A y B se observa en los valores de  $\lambda_{\text{máx}}$ , en nm, de la banda I y banda II de los siguientes ejemplos: 3-hidroxiflavona (344, 239); 3,5,7-trihidroxiflavona (360, 267,5); 3,3',4'-trihidroxiflavona (368, 250) y 3,5,7,4'-tetrahidroxiflavona (367,5, 266).

El uso de los reactivos de desplazamiento, proporciona información adicional, útil en la determinación de la estructura de un flavonoide, así:

- el acetato de sodio, causa significativa ionización únicamente del grupo hidroxilo más ácido del flavonoide y es usado básicamente para detectar la presencia de un grupo 7-hidroxilo libre;
- el metóxido de sodio, causa ionización de todos los grupos hidroxilos, la degradación del espectro con el tiempo es un buen indicador de la presencia de grupos sensibles a álcalis;
- el cloruro de aluminio, forma complejos con grupos o-hidroxilo y con grupos hidroxil-cetona vecinos; en el primer caso el complejo formado es lábil ante la presencia de ácido de tal modo que éste desaparece con el agregado de HCl, no así en el segundo caso en que el complejo formado es estable; y
- el ácido bórico-acetato de sodio, forma también complejos con los grupos o-dihidroxilo y es usado para detectar su presencia.

Un gran número de espectros ultravioleta de flavonoides han sido publicados por Mabry<sup>2</sup>, Harborne<sup>4</sup>, Jurd<sup>51</sup>, flavonas y flavonoles por Jay<sup>52</sup>, para auronas por Geissman y Harborne<sup>53</sup>, para chalconas por Jurd<sup>54</sup> e isoflavonas por Horowitz<sup>55</sup>.

Muy poca es la aplicación de la técnica IR en el análisis de flavonoides debido a que los espectros UV son más informativos y requieren mucho menos material, sin

embargo, algunas absorciones características pueden ser útiles como la absorción C=O entre 1680  $\text{cm}^{-1}$  y 1640  $\text{cm}^{-1}$ , aromáticos entre 1600  $\text{cm}^{-1}$  y 1500  $\text{cm}^{-1}$  y la de -OH quelatado (o-hidroxicetona) a 3500-3200  $\text{cm}^{-1}$ .

Las primeras mediciones de RMN- $^1\text{H}$  en flavonoides fueron limitadas a aquellos menos polares, solubles en  $\text{CDCl}_3$ , luego utilizando  $\text{CCl}_4$  previa reacción para formar el derivado éter trimetilsililado y últimamente las agliconas y los glicósidos son corridos en  $\text{DMSO-d}_6$ . Espectros en los primeros solventes han sido publicados por Mabry<sup>2</sup>.

Los espectros corridos como éteres trimetilsililados en  $\text{CCl}_4$  tienen la ventaja sobre los tomados en  $\text{DMSO-d}_6$ , en que el solvente tiene menor punto de ebullición y puede ser removido fácilmente, evitando asimismo la intensa señal entre 2,0 y 4,0 ppm producido por el  $\text{DMSO}$  no deuterado o parcialmente deuterado, así como la señal del  $\text{H}_2\text{O}$  que fácilmente absorben. Los éteres formados pueden además ser fácilmente hidrolizados con metanol-agua.

En la Tabla 3.5 se señala los desplazamientos químicos aproximados de varios tipos de H en agliconas y glicósidos flavonoides.

**Tabla 3.5.** Desplazamientos químicos aproximados de varios tipos de protones<sup>2</sup>

Desplazamiento, $\delta\text{ppm}$	Tipo de protón
ca. 1,0	C- $\text{CH}_3$ de ramnosa (duplete ancho),
ca. 1,7	metilos de sustituyentes prenilos ( $-\text{CH}_2-\text{CH}=(\text{CH}_2)_2$ ) (los otros protones a 3,5 y 5,2 ppm)
ca. 2,0	acetato ( $-\text{OCOCH}_3$ ) y aromático $=\text{C}-\text{CH}_3$
2,0-3,0	H-3 de flavanonas (multiplete, 2 protones)
3,7-4,1	metoxilos
3,5-4,0	C-H de muchos azúcares
4,2-6,0	H-1 de azúcares (también H-2 de dihidroflavonoles a 5,0 ppm y H-2 de flavanonas a 5,0-5,5 ppm)
6,0	metilendioxi, O- $\text{CH}_2$ -O (singulete)
6,0-8,0	protones de anillo A y B
7,5-8,0	H-2 de isoflavonas (singulete)
9,5-12,5	OH (en derivados no sililados)

Es también usual utilizar reactivos de desplazamiento para la elucidación estructural de flavonoides; Joseph-Nathan y colaboradores utilizaron  $\text{Pr}(\text{fod})_3$  para el caso de flavonas y flavonas metoxiladas<sup>56,57</sup> ( $\text{fod} = 6,6,7,7,8,8,8\text{-heptafluoruro-2,2-dimetil-3,5-otadionato}$ ).

En los últimos años, los espectros de  $\text{RMN-}^{13}\text{C}$  de flavonoides han sido muy usados y de gran ayuda en las determinaciones estructurales<sup>8,58-65</sup>, la información obtenida con esta técnica es complementaria a las obtenidas con el  $\text{RMN-}^1\text{H}$ .

En la Tabla 3.6 se presentan los rangos de desplazamientos químicos para varios tipos de carbonos en los flavonoides<sup>9</sup>. Algunos ejemplos se ilustran en la Figura 3.5.

**Tabla 3.6.** Desplazamientos químicos aproximados de varios tipos de carbono<sup>9</sup>

Tipo de carbono	Desplazamiento, $\delta$ ppm
carbonilo (4-ceto, acilo)	210-170
aromáticos y olefinas	
(a) oxigenados	165-155 (no o/p oxigenación) 150-130 (con o/p oxigenación)
(b) no oxigenados	135-125 (no o/p oxigenación) 125-90 (con o/p oxigenación)
alifáticos	
(a) oxigenados (azúcares)	83-69 (C-1 de O-glicósidos)
(b) no oxigenados	
(C-2, C-3 de flavanona)	80-40
metilendioxi	ca. 100
$\text{OCH}_3$	55-63
$\text{C-CH}_3$	17-20
isopropenilos- $\text{CH}_2\text{CH}=\text{C}(\text{CH}_3)_2$	21( $\underline{\text{C}}\text{H}_2$ ), 122( $\underline{\text{C}}\text{H}$ ), 131( $\underline{\text{C}}$ ), 18( $\underline{\text{C}}\text{H}_3$ )

En la espectrometría de masas, debemos recordar los pesos moleculares de los diferentes núcleos básicos, como son: 222 para flavonas, isoflavonas y auronas; 224 para flavanonas y chalconas; 238 para flavonoles; 240 para dihidroflavonoles; el incremento de 16 unidades de masa por cada grupo hidroxilo, y de 30 por cada metoxilo<sup>5,9</sup>, entre otros.

Asimismo que algunos fragmentos característicos son:  $\text{M}^+$  del pico molecular;  $\text{M}^+-1$  originado por pérdida de un hidrógeno;  $\text{M}^+-15$  por pérdida de metilo del grupo

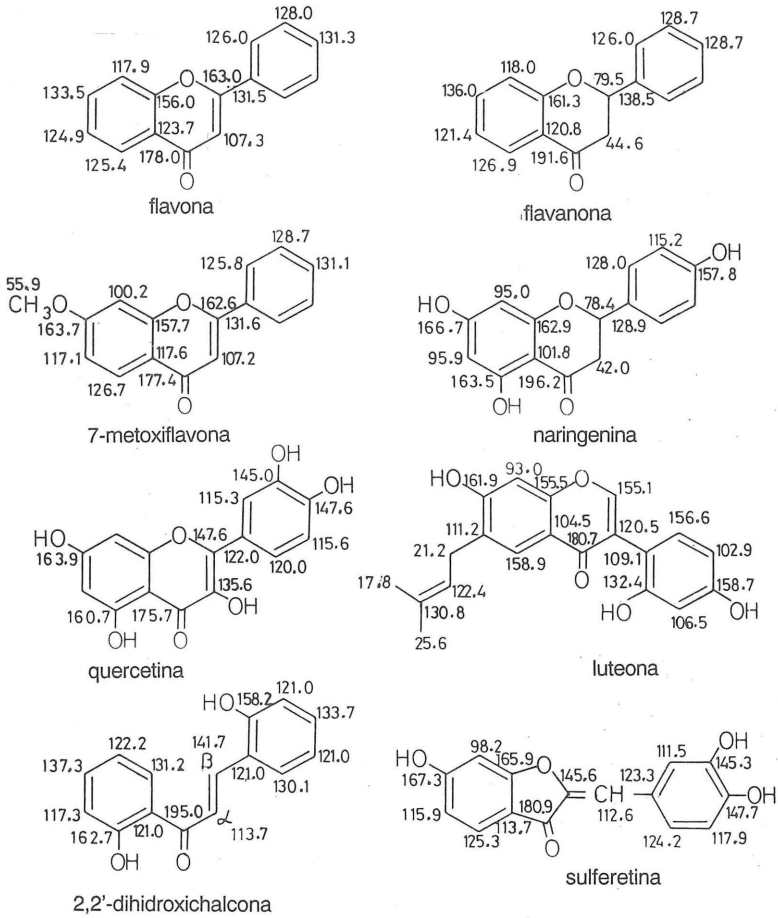


Fig. 3.5 Valores de RMN-<sup>13</sup>C para algunos flavonoides

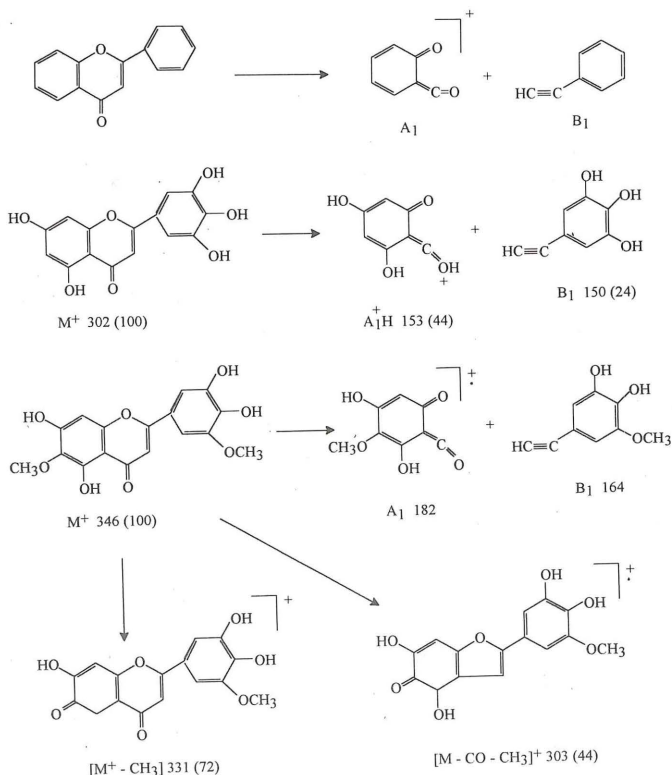


Fig. 3.6 Algunos fragmentaciones características de los flavonoides

metoxilo, la intensidad de la señal es también indicativa de la posición del grupo metoxilo, siendo más intensa si éstos están en C-6 ó C-8 que en otros átomos;  $M^+ - 31$  por pérdida de grupos metoxilo;  $M^+ - 18$  por pérdida de agua;  $M^+ - 28$  ó  $M^+ - 29$  por pérdida de grupo CO o CHO del C-4 para formar un anillo de cinco miembros;  $M^+ - 43$  por pérdida de grupo  $-COCH_3$ ,  $M^+ - 56$  por pérdida de isopentilo, etc.

Es también usual la fisión de  $M^+$  en dos fragmentos conteniendo anillos A y B, como se observa en la Figura 3.6.

La determinación del peso molecular y formación del derivado perdeuterio-metoxilado (PDM) es también importante para conocer los grupos presentes, por ejemplo: un flavonoide cuyo  $M^+$  es 360 está de acuerdo con un flavonoide conteniendo tres grupos hidroxilos y tres grupos metoxilo; su derivado PDM debe exhibir un  $M^+$  a 411 en concordancia con tres grupos  $-OCH_3$  y tres grupos  $-OCD_3$ .<sup>66</sup>

En la Figura 3.7 se encuentra los espectros IR y UV de la morina.

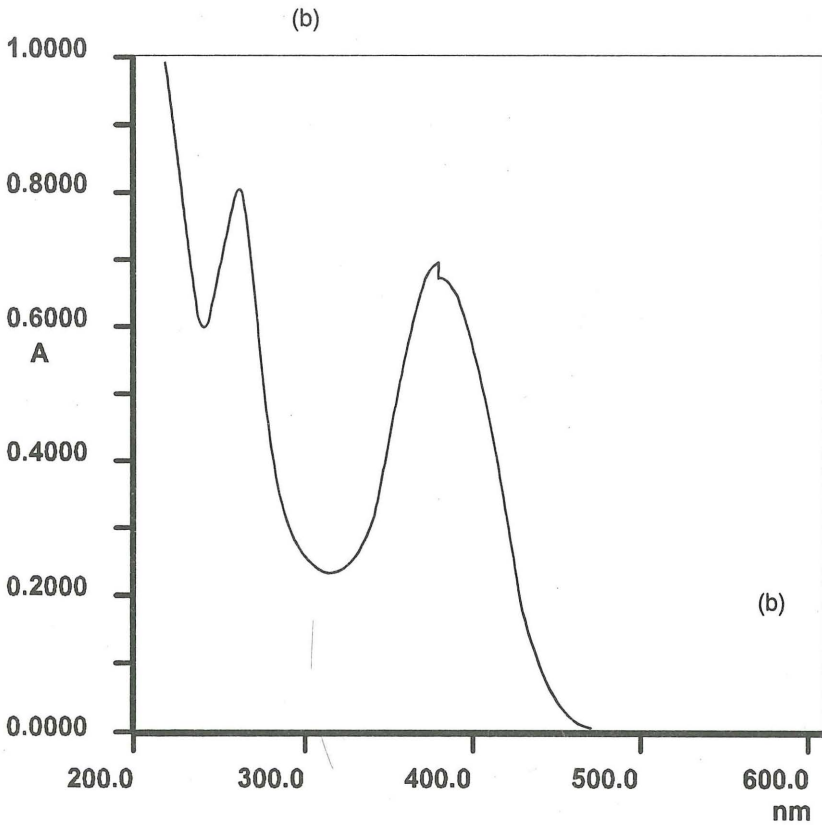
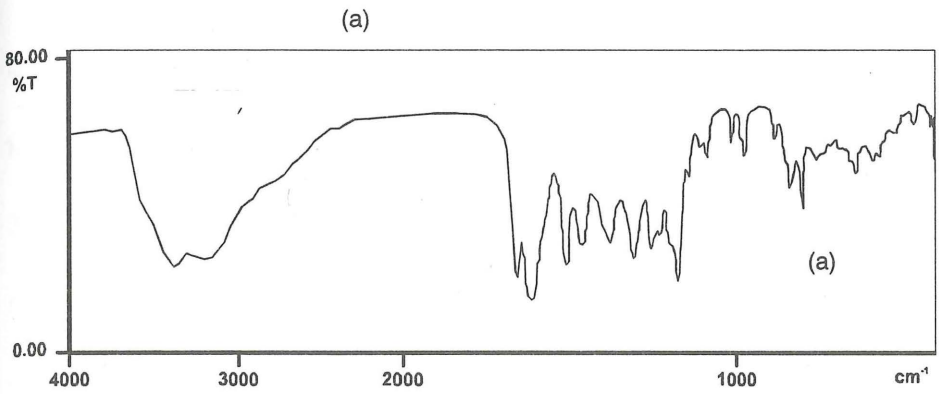


Fig. 3.7 Espectros infrarrojo (a) y ultravioleta (b) de la morina

## REFERENCIAS

1. Geissman, T.A. (ed.) (1962) *The Chemistry of Flavonoid Compounds*, Pergamon Press, New York.
2. Mabry, T.J., Markham, K.R. and Thomas, M.B. (1970) *The Systematic Identification of Flavonoids*. Springer-Verlag, Berlin.
3. Harborne, J.B., Mabry, T.J. and Mabry, H. (ed.) (1975) *The Flavonoids*. Chapman and Hall, London.
4. Harborne, J.B. (1975) Review. Flavonoid Sulphates: A New Class of Sulfur Compounds in Higher Plants. *Phytochem.* 14, 1147-1155.
5. Swain, T. (1976) Flavonoids. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (Goodwin, T.W. eds.), Vol II. Academic Press, London.
6. Swain, T. (1976) Nature and Properties of Flavonoids. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (Goodwin, T.W. eds.) Vol I. Academic Press, London.
7. Wollenweber, E. and Dietz, V.H. (1981) Occurrence and Distribution of Free Flavonoid Aglycones in Plants. *Phytochem.* 20, 869-932.
8. Harborne, J.B. and Mabry, T.J. (ed.) (1982) *The Flavonoids. Advances in Research*. Chapman and Hall, London.
9. Markham, K.R. (1982) *Techniques of Flavonoid Identification*. Academic Press, London.
10. Ingham, J.L. (1983) Naturally Occurring Isoflavonoids (1955-1981) En: *Progress in the Chemistry of Organic Natural Products*. (Herz, W., Grisebach, H., Kerby, G.W., eds.) Vol 43, Springer-Verlag, Wien.
11. Cody, V., Middleton, E., Harborne, J. (ed.) (1986) *Plant Flavonoids in Biology and Medicine*. Alan R. Liss, Inc, N.Y.
12. Tahara, S., Ibrahim, R.K. (1995) Prenylated Isoflavonoid - an Update. *Phytochem.* 38, 1073-1094.
13. Donnelly, D.M.X., Boland, G.M. (1995) Isoflavonoids and Neoflavonoids. Naturally Occurring O-heterocycles. *Nat. Prod. Report.* 12, 321-338.
14. Harborne, J.B., Williams, C.A. (1995) Anthocyanins and Other Flavonoids. *Nat. Prod. Report.* 12, 639-658.
15. Barron, D., Ibrahim, R.K. (1996) Isoprenylated Flavonoids - a Survey. *Phytochem.* 43, 921-982.
16. Gross, E.G., Pomillo, A.B. (1985) *Introducción al Estudio de los Productos Naturales*. Monografía N°30. Serie de Química OEA, Washington D.C.
17. Dhar, D.N. (1981) *The Chemistry of Chalcones and Related Compounds*. Wiley, New York.

18. Luckner, M. (1990) *Secondary Metabolism in Microorganism, Plants and Animals*. Springer-Verlag, Berlin.
19. Wong, E. (1976) Biosynthesis of Flavonoids. En: *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (Goodwin, T.W. eds.), Vol I. Academic Press, London.
20. Harborne, J.B. (1967) *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, New York.
21. Harborne, J.B. (1973) *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall-London.
22. Domínguez, X.A. (1973) *Métodos de Investigación Fitoquímica*. Limusa Wiley, México.
23. Harborne, J.B. (1959) The Chromatography of the Flavonoid Pigments. *J. Chromatogr.* 2, 581-604.
24. Voirin, B. and Jay, M. (1977) Sur la Presence d'Amento Flavone chez *Tmesipteris tannensis*. *Phytochem.* 16, 2043-2044.
25. Domínguez, X.A., Ramírez, R.H., Lock de Ugaz, O., García, J., Ketchan, R. (1968) Chemical Study of the Cactus *Ariocarpus retusus*. *Planta Médica* 16, 182-183.
26. Markham, B., Porter, L.J. (1979) Flavonoids of the Primitive Liverwort *Takakin* and their Taxonomic and Phylogenetic Significance. *Phytochem.* 18, 611-615.
27. Boulliant, M.L., Ferreres de Arce, F., Bonvin, J.F., Chopin, J., Zoll, A., et. Mathieu, G. (1979) Nouvelles C-glycosylflavones Extraites de *Spergularia rubra*. *Phytochem.* 18, 1043-1047.
28. Tschesche, R., Braun, T.M. and Sassen, W.V. (1980) Symploioside, a Flavonol Glycoside from *Symplocos uniflora*. *Phytochem.* 19, 1825-1830.
29. Ghosal, S., Jaiswal, D.K. and Biswas, K. (1978) New Glycoxanthenes and Flavanone Glycosides of *Hoppea dichotoma*. *Phytochem.* 17, 2119-2123.
30. Ulubelen, A., Kerr, K.M. and Mabry, T.J. (1980) New-6-hydroxyflavonoids and Their Methyl Ethers and Glycosides from *Neuroleana oaxacane*. *Phytochem.* 19, 1761-1766.
31. Mues, R., Timmermann, B.N., Ohno, N. and Mabry, T.J. (1979) 6-Methoxyflavonoids from *Brickella californica*. *Phytochem.* 18, 1379-1383.
32. Jay, M., Wollenweber, E. and Favre-Bonvin, J. (1979) Novel 2-Substitued Flavonols from the Farinosa Exudate of *Notholaena affinas*. *Phytochem.* 18, 153-154.
33. Hostettmann Kaldas, M., et. Guillardmod, J. (1978) Xanthenes et C-glucosides Flavoniques du genre *Gentiana* (Sous genre *Gentianella*). *Phytochem.* 17, 2083-2086.
34. Parker, W.H., Maze, J. and Mc Lachlan (1979) Flavonoids of *Abbies amabilis* Needles. *Phytochem.* 18, 508-510.
35. Wagner, H., Bladt, S., Zgainski, E.M. (1984) *Plant Drug Analysis. A Thin Layer Chromatography*. Springer-Verlag, Berlin.

36. Geiger, H. und Groot-Pfleindezer, W. (1979) Die Flavon-und Flavonol Glykoside von *Taxodium distichum*. *Phytochem.* 18, 1709-1711.
37. Geiger, H., Lang, U., Britsch, E., Mabry, T.J., Suhrsschücker, U. Vander-Velde, G. und Waldrun, H. (1978) Die Flavonglykoside von *Equisetum*. *Phytochem.* 17, 336-337.
38. Karl, Ch., Pederson, P.A., Scharz, Ch. (1977) Ein neues Flavonol Acylglucosid aus *Salix viminalis*. *Phytochem.* 16, 1117-1119.
39. Cabrera, J.L. and Juliani, H.R. (1979) Two New Quercetin Sulphates from Leaves of *Flaveria bidentis*. *Phytochem.* 18, 510.
40. Higuchi, R. and Donnelly, D.M.X. (1978) Acylated Flavonol Glucosides of *Pinus contorta* needles. *Phytochem.* 17, 787-791.
41. Ward, R.S., Pelter, A. (1974) The Analysis of Mixtures of Closely Related Naturally Occurring Organic Compounds Using High Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr. Sci.* 12, 570-574.
42. Wulf, L.W., Nagel, C.W. (1976) Analysis of Phenolic Acids and Flavonoids by High Pressure Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.* 116, 271-279.
43. Kingston, D.G.I. (1979) High Performance Liquid Chromatography of Natural Products. *J. Nat. Prod.* 42, 237-260.
44. Castele, K.V., Van Sumere, C.F. (1982) Separation of Flavonoids by Reversed-Phase High Performance Liquid Chromatography, *J. Chromatogr.* 240, 81-94.
45. Daigle, D.J. and Conkerton, E.J. (1982) High Performance Liquid Chromatography of 34 Selected Flavonoids, *J. Chromatogr.* 240, 202-205.
46. Daigle, D.J. and Conkerton, E.J. (1983) Analysis of Flavonoids by HPLC. *J. Liq. Chromatogr.* 6 (Suppl. 1) 105-118.
47. Rouseff, R.L. and Ting, S.Y. (1979) Quantitation of Polymethoxylated Flavones in Orange Juice by High Performance Liquid Chromatography. *J. Chromatogr.* 176, 75-87.
48. Fondi, F., Kahie, Y.D. y col. (1989) Solvent Selectivity Effects in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography of Flavonoid Compounds. *J. of Chromatography* 461, 281-292.
49. Fondi, F., Grassini-Strazza, G., Kahie, Y.D. y col. (1989) Comparison of Reversed-Phase Thin Layer and High Performance Liquid Chromatography of Flavonoid Compounds. *J. of Chromatography* 462, 205-207.
50. Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marston, A. (1986) **Preparative Chromatography Techniques. Applications in Natural Products Isolation.** Springer-Verlag, Berlin.
51. Jurd, L. (1962) Spectral Properties of Flavonoid Compounds. En: **The Chemistry of Flavonoid Compounds** (Geissman, T.A., ed.) Pergamon Press, N.Y.

52. Jay, M., Gonnet, J.F., Wollenweber, E. and Voirin, B. (1975) Sur l'analyse Qualitative des Aglycones Flavoniques dans une Optique Chimiotaxinomique. *Phytochem.* **14**, 1605-1613.
53. Geissman, T.A. and Harborne, J.B. (1956) Anthochlor Pigments. XIII. The Ultraviolet Absorption Spectra of Phenolic Plant Pigments. Polyhydroxyaurones. *J. Am. Chem. Soc.* **78**, 832-837.
54. Jurd, L. and Horowitz, R.M. (1961) Spectral Studies on Flavonoid Compounds. III Polyhydroxychalcones. *J. Org. Chem.* **26**, 2561-2563.
55. Horowitz, R.M. and Jurd, L. (1961) Spectral Studies on Flavonoid Compounds. II Isoflavones and Flavanones. *J. Org. Chem.* **26**, 2446-2449.
56. Joseph-Nathan, P., Abramo-Bruno, D., Torres, Ma.A. (1981) Structural Elucidation of Polymethoxyflavones from Shift Reagent Proton NMR Measurements. *Phytochem.* **20**, 313-318.
57. Joseph-Nathan, P., Mares, J., Hernández, Ma.C. (1974) Proton and Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Studies of Flavone and Deuterated Analogs. *J. Mag. Reson.* **16**, 447-453.
58. Wenkert, E. and Gottlieb, H.E. (1977) Carbon-13 Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy of Flavonoid and Isoflavonoid compounds. *Phytochem.* **16**, 1811-1816.
59. Chari, V.M. (1981) <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy of Flavonoid-O- and C-glycosides. Proceedings of International Bioflavonoid Symposium, Munich, FRG.
60. Wagner, H., Chari, V.M., Sonnenbichler, J. (1976) <sup>13</sup>C-NMR-Spektren Natürlich Vorkommender Flavonoide. *Tetrahedron Letters* **21**, 1799-1802.
61. Chari, V.M. and Wagner, H. (1977) Carbon-13 NMR Spectroscopy of Flavonoids. Proceedings of the 5th Hungarian Bioflavonoid Symposium, Matrafured, Hungary.
62. Agrawal, P.K., Rastogi, R.P. (1981) <sup>13</sup>C-NMR Spectroscopy of Flavonoids. *Heterocycles* **16**, 2185-2236.
63. Calvert, D.J., Cambie, R.C. and Davis, B.R. (1979) <sup>13</sup>C-NMR Spectra of Polymethoxy-and-Methylenedioxyflavonols. *Org. Magn. Reson.* **12**, 583-586.
64. Iinuma, M., Matsuura, S., Kusuda, K. (1980) <sup>13</sup>C-Nuclear Magnetic Resonance (NMR) Spectral Studies on Polysubstituted Flavonoids I. <sup>13</sup>C-NMR Spectra of Flavones. *Chem. Pharm. Bull.* **28**, 708-716.
65. Markham, K.R., Ternai, B., Stanley, R., Geiger, H. and Mabry, T.J. (1978) Carbon-13 NMR Studies of Flavonoids-III *Tetrahedron.* **34**, 1389-1397.
66. Ayanoglu, E., Ulubelen, A., Clark, W.D., Brown, E.K., Kerr, R.R., Mabry, T.J. (1981) Myricetin and Quercetin Methyl Ethers from *Haplopappus integerrimus* var. *Punctatus*. *Phytochem.* **20**, 1715-1717.



## Capítulo IV

# ANTOCIANINAS

### 4.1 INTRODUCCION

El término antocianina fue utilizado por Marquat en 1835 para designar a los pigmentos azules de las flores. Más tarde se descubrió que no sólo el color azul, sino que también el púrpura, violeta, magenta, y que todos los tonos de rojo, rosado, escarlata, que aparecen en muchas flores, frutos y algunas hojas y raíces de plantas, se deben a pigmentos químicamente similares a las antocianinas de Marquat<sup>1</sup>.

En 1913, Willstätter y Everest propusieron que el término antocianina se aplicara para el glicósido y el de antocianidina para la aglicona. Ellos también reconocieron la naturaleza oxonio de estos compuestos por lo que utilizaron un medio ácido para su extracción, venciendo así las dificultades de su extracción en solventes neutros<sup>2</sup>.

Las antocianinas están basadas químicamente en una única estructura aromática, aquella de la cianidina, y todas se consideran derivadas de ella por adición o sustracción de grupos hidroxilo, por metilación o por glicosidación. Ellas son intensamente coloreadas y solubles en agua. Se consideran que tienen como función en la planta el ser atractores de insectos y pájaros para los procesos de polinización y diseminación de las semillas.

Las antocianinas como pigmentos naturales inocuos tienen considerable potencial en la industria alimentaria; pero a diferencia de los pigmentos rojos sintéticos que se utilizan actualmente, las antocianinas no son estables especialmente en soluciones neutras y alcalinas, ocurriendo fácilmente cambios durante el procesamiento del material crudo y el almacenaje, los que se manifiestan en pérdida de color, oscurecimiento del producto y formación de precipitados en los extractos. Son también

sensibles a las variaciones de pH, a pH 3 el pigmento está presente como sales de flavilio de color rojo, a pH 8 es de color violeta y a pH 11 de color azul (Fig. 4.1). Debido a estos cambios de color fueron llamados “camaleones vegetales” por Tswett. Últimos estudios reportan que el color de las antocianinas se hace resistente a las variaciones de pH cuando se encuentran como productos de condensación con catequinas en presencia de aldehidos, siendo en estos casos de mayor valor como agente de coloración de alimentos<sup>3</sup>.

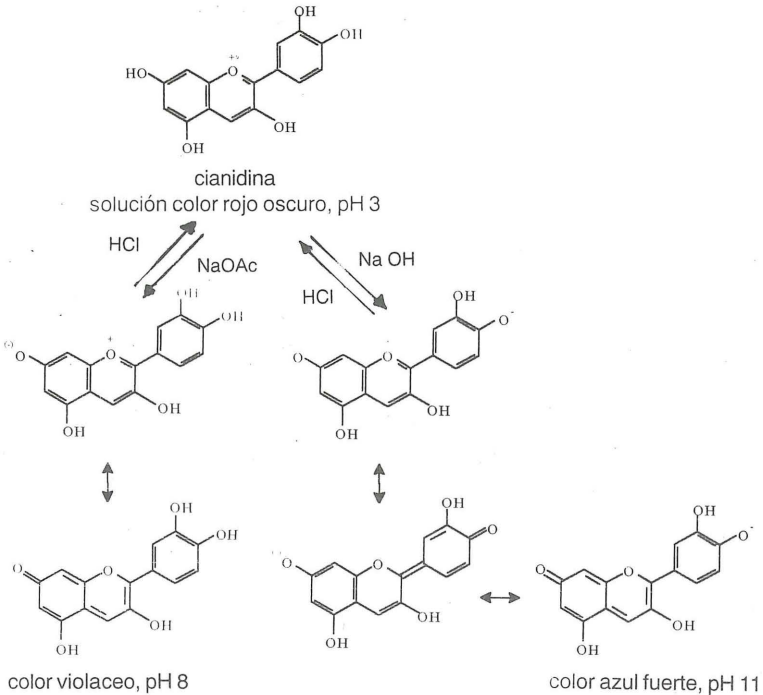


Fig. 4.1 La antocianina y sus cambios de coloración

Las antocianinas juegan un rol importante en la producción de vinos, siendo la fuente comercial más antigua de antocianina la “enocianina”, extracto coloreado frecuentemente extraído de las uvas y comercializado en Italia desde 1879; originalmente fue utilizada para intensificar el color de los vinos, pero en los últimos años ha encontrado aplicaciones como colorante de alimentos<sup>4,5</sup>. Asimismo se está haciendo importante la extracción de antocianinas de otras fuentes naturales como el maíz morado, la col y el camote morado y los rabanitos.

Aunque la literatura reporta a la fecha más de 250 antocianinas, se hace necesaria una mayor investigación para darles un mejor uso y sean más competitivas como alternativas viables a los colorantes sintéticos hoy en uso.

## 4.2 ESTRUCTURA Y ESTABILIDAD

Las antocianinas están consideradas dentro del grupo de los flavonoides, ya que poseen el esqueleto característico  $C_6-C_3-C_6$  y el mismo origen biosintético, pero difieren en que absorben fuertemente en la región visible del espectro.

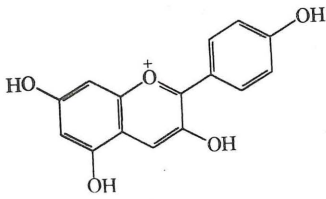
Hay seis antocianidinas (agliconas de las antocianinas) comunes\*, siendo la cianidina la más común y responsable del color magenta, los colores rojo-naranja se deben a la pelargonidina (con un grupo hidroxilo menos que la cianidina), mientras que los colores violeta y azul a la delfinidina (con un grupo hidroxilo más). También son muy comunes tres metil-éteres: peonidina, derivada de la cianidina, y petunidina y malvidina, basadas en la delfinidina. Cada una de las 6 antocianidinas ocurre con unidades de azúcar, la variación está en el tipo del azúcar, del número y de la posición en los que están unidos. Entre los monosacáridos comunes podemos mencionar a la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa, y como disacáridos a la rutinosa, sambubiosa, soforosa, gentiobiosa y latirosa (Fig. 4.2)<sup>1,5,7</sup>.

Basadas en su glicosidación, pueden clasificarse como 3-monoglicósidos, 3-biósididos, 3,5-diglicósidos y 3,7-diglicósidos, siendo estos últimos menos comunes. Si hubiera tres unidades de azúcar, las tres pueden estar en posición 3, o dos en posición 3 y una en 5. Únicamente un pigmento ha sido reportado con más de tres unidades de azúcar.

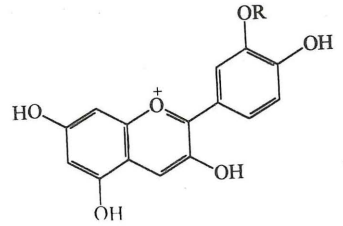
Las antocianinas aciladas están siendo descritas con mayor frecuencia en los últimos años, con sustituyentes alifáticos, aromáticos y azúcares; siendo los principales grupos acilantes los ácidos fenólicos como p-coumarico, cafeico, ferúlico o sinápico y algunas veces los ácidos acético, malónico y p-hidroxibenzoico; ellos se encuentran preferentemente en el azúcar del C-3 (Fig. 4.3)<sup>8-18</sup>.

---

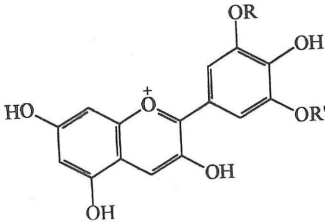
\* aisladas por primera vez:  
 la pelargonidina por Willstätter y Bolton de *Pelargonium zonale*, en 1914,  
 la cianidina por Willstätter y Everest de *Centaurea cyames*, en 1913,  
 la peonidina por Willstätter y Nolan de *Paeonia sp.*, en 1915,  
 la delfinidina por Willstätter y Meig de *Delphinium consolida*, en 1915,  
 la petunidina por Willstätter y Burdick de *Petunia sp.*, en 1917,  
 la malvidina por Willstätter y Zollinger de *Malva sylvestris* en 1917.



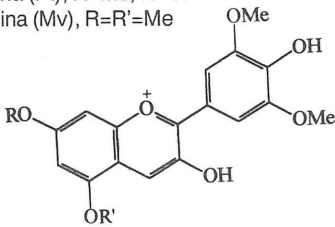
pelargonidina (Pg)



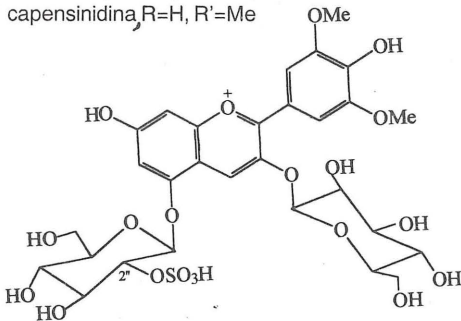
cianidina (Cy), R=H  
peonidina (Pn), R=OH



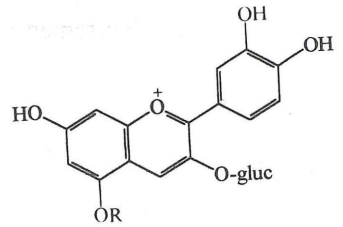
delfinidina (Dp), R=R'=H  
petunidina (Pt), R=Me, R'=H  
malvidina (Mv), R=R'=Me



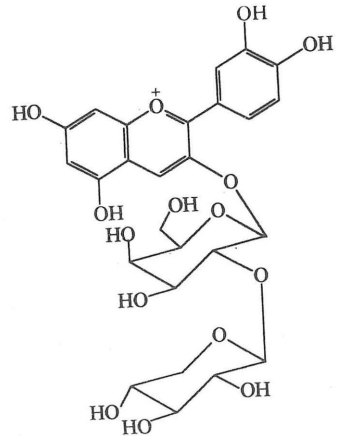
hirsutidina, R=Me, R'=H  
capensinidina, R=H, R'=Me



malvidin 3-O-β-D-glucósido-5-O-(2''-sulfato-β-D-glucósido)



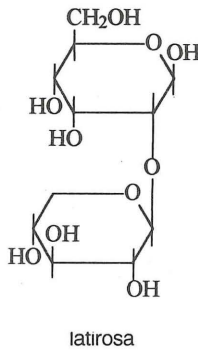
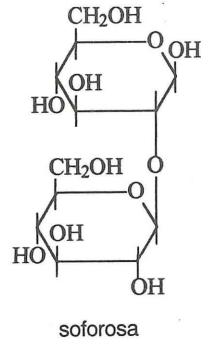
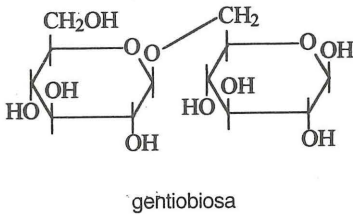
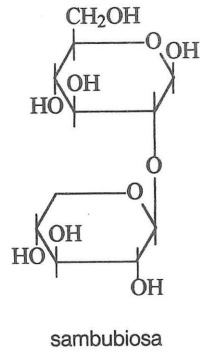
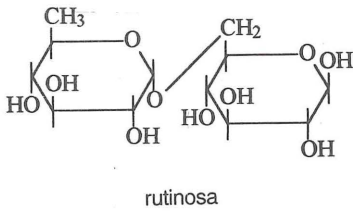
cianidina-3-glucósido, R=H  
cianidina-3,5-diglucósido, R=gluc



cianidin 3-latirósido (Cy 3-lat)  
cianidin 3-O-(2-O-(β-D-xilopiranosil)-β-D-galactopiranosido)

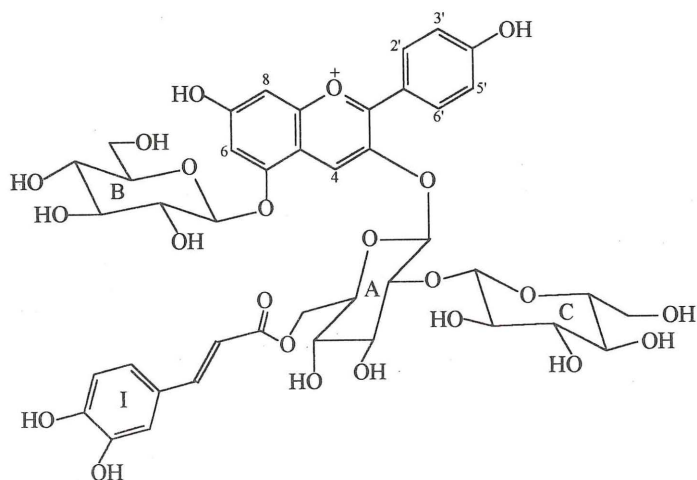
Fig. 4.2 Antocianidinas, antocianinas y biósidos

continúa Fig. 4.2 (biósidos)

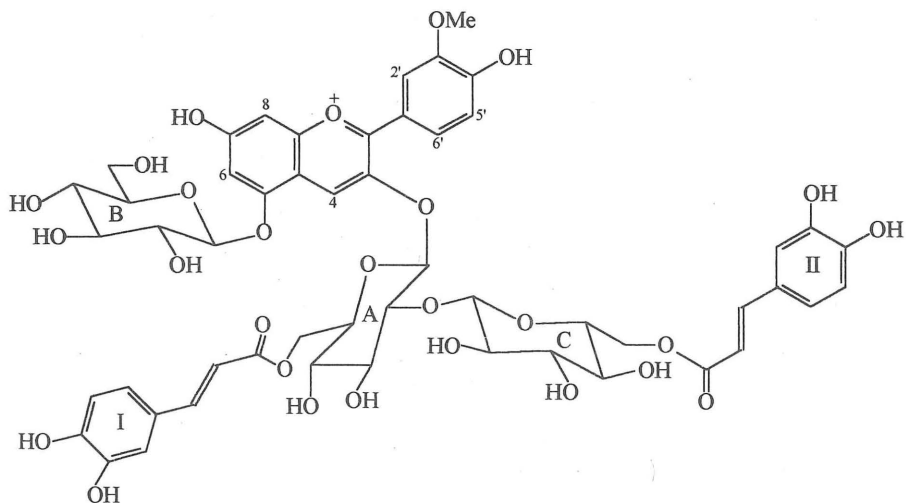


Factores que influyen en el color y la estabilidad de las antocianinas <sup>3,5,19</sup>

Como se ha mencionado, las antocianinas sufren de una “inestabilidad inherente”, por lo que debe tenerse muchas precauciones durante su manipuleo o su proce-



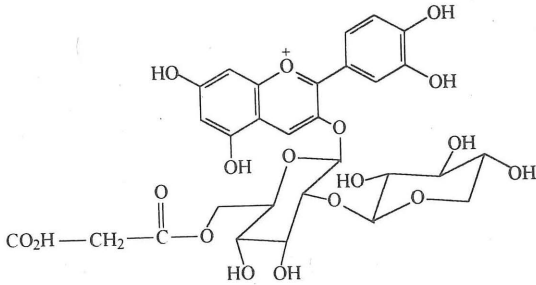
pelargonidin 3-O-(6-O-transcafeil)-2-O-(β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosido-5-O-(β-D-glucopiranosido)



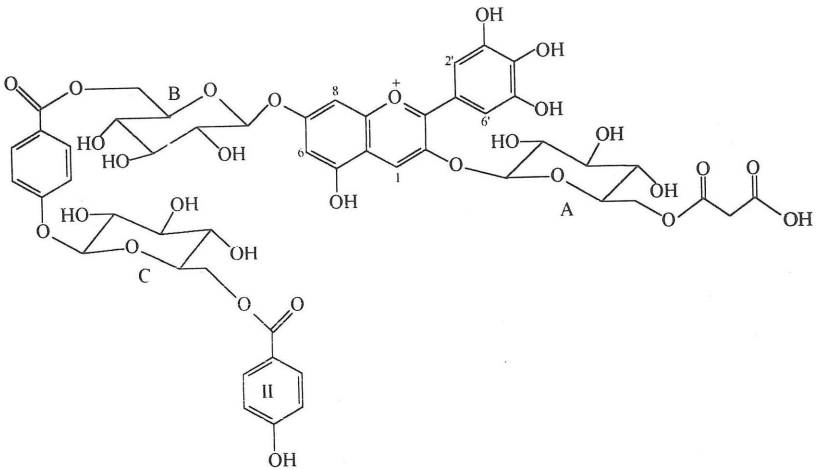
peonidin 3-O-(6-O-transcafeil)-2-O-(6-O-transcafeil-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosil-5-O-(β-D-glucopiranosido)

Fig. 4.3 Antocianinas aciladas

continúa Fig. 4.3

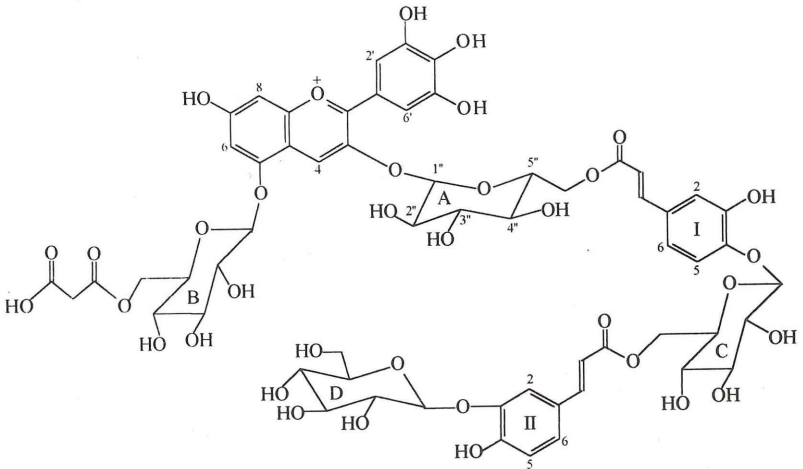


cianidin 3-O-[2-O-(β-D-xilopiranosil)-6-O-(malonil)-β-D-glucopiranosido



delfinidin 3-O-[6-O-(malonil)-β-D-glucopiranosido]-7-O-[6-O-(4-O-(6-O-(p-hidroxibenzoil)-β-D-glucopiranosil)-p-hidroxibenzoil)-β-D-glucopiranosido]

continúa Fig. 4.3



delfinidin 3-O-(6-O-trans-4-O-(6-O-(trans-3-O-(β-D-glucopiranosil)-cafeil)-β-D-glucopiranosil)-cafeil)-β-D-glucopiranosido)-5-O-(6-O-malonil)-β-D-glucopiranosido

samiento. Un conocimiento de los factores involucrados en su “inestabilidad” así como de los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción y purificación de las antocianinas y su uso como colorante de alimento. Los factores que influyen en la estabilidad de las antocianinas son pH, temperatura, presencia de oxígeno, así como la interacción con otros componentes en los alimentos como el ácido ascórbico, iones metálicos, azúcares y copigmentos.

Los estudios han demostrado que:

- las antocianidinas son menos estables que las antocianinas, y menos solubles en agua, por lo que se asume que la glicosidación confiere estabilidad y solubilidad al pigmento;
- a mayor grado de hidroxilación, decrece generalmente la estabilidad de la antocianina, mientras que un incremento en el grado de metoxilación o del grado de glicosilación, tiene el efecto opuesto, por ejemplo, los diglicósidos se encontraron que eran más estables que los monoglicósidos a la decoloración durante el almacenamiento, al tratamiento al calor y la exposición a la luz;

- la naturaleza del resto azúcar influye en la estabilidad, por ejemplo, la antocianina conteniendo galactosa es más estable que aquella con arabinosa;
- la presencia de por lo menos dos grupos acilo estabiliza a la antocianina probablemente por la presencia de sistema aromático en el grupo acilo, encontrándose que hay diferencia también por el tipo de grupo presente, siendo más estable si la acilación es con ácido caféico que con ácido p-coumarico;
- en presencia de oxígeno la máxima estabilidad térmica de las antocianidina-3-glicosidades es a pH 1,8 a 2,0, mientras que para las antocianidina-3,5-diglicosidades lo es a pH 4,0-5,0;
- las antocianinas son generalmente inestables cuando se exponen a la luz UV o a la luz visible, siendo algunas más afectadas que otras, por ejemplo, las antocianinas que tienen el OH en C-5 sustituido son más susceptibles a la descomposición que aquellas no sustituidas en esa posición;
- la presencia de ácido ascórbico produce decoloración de la antocianina, probablemente por la indirecta oxidación por el peróxido de hidrógeno que se forma durante la oxidación aeróbica del ácido ascórbico;
- las concentraciones altas de azúcar (>20%) o de jarabe para preservar las frutas o jugo de frutas, tiende a ejercer un efecto protector sobre la antocianina;
- la co-pigmentación intermolecular de las antocianinas, esto es, la formación de complejos con proteínas, taninos, y otros flavonoides como quercetina y rutina, aumentan la estabilidad y el color de las antocianinas.

### 4.3 BIONSINTESIS

En el esquema general biosintético de los flavonoides (Fig. 3.4) se observa la formación de la antocianidina a partir de su intermedio biosintético dihidroflavonol.

### 4.4 EXTRACCION Y AISLAMIENTO

El método usual de extracción es por maceración de la muestra con una solución de HCl 1% en metanol (en etanol en caso de utilizarlos para alimentos), dejándolo toda la noche en la refrigeradora (tener cuidado de dejar el recipiente cubierto en la refrigeradora, especialmente cuando se trata de la solución metanólica). La solución de antocianina así obtenida se concentra al vacío a una temperatura menor de 30°C y luego se cromatografía sobre papel Whatman N° 3. Puede utilizarse una serie de sistemas: BAW (n-butanol:ácido acético glacial:agua, 4:1:5, fase superior); Bu:HCl (n-

butanol:HCl 2N, 1:1, fase superior); fórmico (ácido fórmico:HCl conc:agua, 5:5:3), fo-restal (HOAc glacial:HCl conc:agua, 30:3:10), entre otros. Si la muestra contiene apre-ciable cantidad de azúcares puede emplearse 1% HCl en agua, lo que produce mejores resultados que con BAW<sup>1,20,21</sup>.

En general, los sistemas de solventes pueden clasificarse en dos grupos principa-les, los acuosos y los oleosos (o aceitosos), requiriendo menor tiempo de desarrollo los primeros. Es conveniente alternar ambos sistemas, acuosos y oleosos, para lograr una mejor separación; se pueden aplicar las siguientes secuencias<sup>21</sup>:

BAW → 1% HCl en agua → BAW, ó  
1% HCl → BAW → 1% HCl

Las bandas de antocianinas luego de secadas se elúen del papel con metanol:ác.acético:agua, (MAW). Generalmente son suficientes tres separaciones cromato-gráficas para obtener una antocianina lo suficientemente pura para el análisis de la aglicona y del azúcar.

Son también útiles las separaciones por cromatografía de columna utilizando resinas de intercambio catiónico, como Amberlita CG-50, así como poliamida o polivinilpirrolidona (PVP).

Muy buenos resultados ha dado el HPLC en fase reversa, utilizando columnas de  $\mu$ -Bondapak (C<sub>18</sub>), y solventes como 0,1% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> en HOAc:H<sub>2</sub>O (10:90), y H<sub>2</sub>O:HOAc:MeOH, 65:15:20 ó 71:10:19<sup>22</sup>.

Además de la metodología usual de extracción descrita, es conveniente conside-rar lo siguiente<sup>5</sup>:

- la extracción puede realizarse también en frío con solventes no acidificados, como metanol 60%, n-butanol, etilenglicol, propilenglicol, acetona, mezcla de acetona/metanol/agua, o simplemente con agua a ebullición; en todos estos casos se espera que las antocianinas sean extraídas en el estado más natural posi-ble, ya que un medio ácido, como HCl, podría alterar su estado original, además que puede producirse pérdida de grupos ácido lábiles y de azúcares;
- como medio ácido puede utilizarse además de HCl, ácidos orgánicos débiles como el ácido fórmico y ácido tartárico;
- el uso de etanol conteniendo 200 a 2000 ppm de SO<sub>2</sub> incrementa el rendimiento de extracción, resultando un extracto que posee hasta dos veces el poder tintoreo en comparación al uso de etanol solamente.

En los últimos años la extracción de las antocianinas aciladas se ha realizado con 1% HCl: MeOH, o MAW (MeOH:HOAc:H<sub>2</sub>O, 9:1:10), a temperatura ambiente, por 5

horas. El extracto se concentra y el concentrado rojo-púrpura (o púrpura rojizo) se purifica por cromatografía de columna con gel Diaión HP-20, y gel de Sephadex LH-20 y posteriormente por cromatografía de papel, de capa delgada y HPLC. Los sistemas de solventes usados en las cromatografías de papel y capa delgada son: BAW (n-BuOH:HOAc:H<sub>2</sub>O, 4:1:5 ó, 4:1:2), BuH (n-BuOH:HCl 2M, 1:1), AHW (HOAc:HCl:H<sub>2</sub>O, 15:3:82), 1% HCl (HCl:H<sub>2</sub>O, 3:97). Para la separación por HPLC se usa columnas de fase reversa C18, y eluidas con un gradiente lineal por 40 minutos de 40-85% de solvente B (1,5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 20% HOAc, 25% MeCN en H<sub>2</sub>O) en solvente A (1,5% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> en H<sub>2</sub>O). La detección de las antocianinas se efectúa a 530 nm. Las fracciones se evaporan al vacío, a sequedad, luego se disuelven en un pequeño volumen de metanol conteniendo 0,1% de HCl, y se precipitan los pigmentos por adición de exceso de éter etílico<sup>8-18</sup>.

#### 4.5 IDENTIFICACION <sup>1,5,8-15,21</sup>

Las antocianinas son identificadas por sus valores de R<sub>f</sub> y sus propiedades de absorción en la región visible. Las antocianinas simples en solución ácida (0,1% HCl en MeOH), tienen dos máximos de absorción principales, uno en la región visible entre 465 y 550 nm y otro más pequeño en el UV, alrededor de los 275 nm. Es también útil determinar la relación de absorción a 440 nm a la absorción al  $\lambda_{\text{máx}}$  (entre 500-540 nm), ésta es usualmente alrededor de 24 para derivados de cianidina sustituida en posición 3 y de 13 si están en posición 5; para la delphinidina, las relaciones correspondientes son de 18 y 11.

Las antocianinas aciladas exhiben una absorción débil adicional entre 310 y 335 nm, rango en el que puede determinarse el tipo de acilación aromática involucrada.

La adición de solución alcohólica al 5% de tricloruro de aluminio produce un desplazamiento batocrómico del máximo en el visible de 15 a 35 nm, cuando hay presencia de grupos o-dihidroxilo libre.

La glucosilación de antocianidina en la posición C-3 generalmente resulta en un desplazamiento batocrómico del  $\lambda_{\text{máx}}$ , mientras que la sustitución en C-5 produce un hombro en la curva de absorción a 440 nm.

Para determinar la antocianidina y el azúcar de una antocianina es necesario hidrolizarla; para ello, en un tubo de ensayo se coloca 1 mg del pigmento, se disuelve en 2 mL de MeOH, se agrega 2 mL de HCl 2N y se coloca el tubo en un baño de ebullición por 30 minutos. Después de enfriar, la aglicona se extrae por adición de 1 mL de alcohol amílico, se retira la capa superior del alcohol amílico, se lleva a sequedad, se redisuelve en MeOH y se corre una CCD en papel Whatman N°1, comparando con estándares de agliconas de referencia, pelargonidina, cianidina, peonidina,

malvidina, petunidina y delphinidina y usando sistemas de desarrollo como Fórmico y Forestal por 4-8 horas.

La solución acuosa remanente después de retirar el alcohol amílico contiene los azúcares. El HCl remanente en esta solución acuosa interfiere en la determinación del azúcar por lo que hay que removerlo, para ello se hace sucesivos lavados con solución al 10% de di-n-octilmetilamina en  $\text{CHCl}_3$ , (las trazas de amina también deben ser eliminadas con lavados sucesivos de  $\text{CHCl}_3$ ), la solución de azúcar se seca, se le agrega dos gotas de agua para disolver nuevamente el azúcar y se cromatografía en papel Whatman N°1 utilizando patrones de glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa y ramnosa, en n-butanol:benzoceno:piridina:agua 5:1:3:3 y fenol. El revelado puede hacerse con ftalato ácido de anilina, después de aspersar se debe secar y calentar a  $105^\circ\text{C}$  por 2-3 minutos. Los azúcares muestran manchas rojizas o marrones bajo la luz visible o UV. Usualmente se debe ver de 1 a 3 azúcares en relación de 1, 1:1, 1:2 ó 1:1:1.

Algunos valores característicos para antocianidinas y antocianinas se dan en las Tablas 4.1 y 4.2, valores más completos se reportan en las referencias 3 y 21.

La utilización de las técnicas IR y RMN no es muy usual, salvo la necesidad de determinar nuevas estructuras; como es el caso de las antocianinas aciladas últimamente reportadas. Debemos mencionar que con los modernos métodos de análisis como por ejemplo el FAB-MS (fast atom bombardment mass spectroscopy), puede determinarse el número, identidad, y punto de unión de los grupos acilo, conservando prácticamente la molécula intacta. La Tabla 4.3 señala características espectroscópicas para algunas antocianinas aciladas. Solamente se indican los valores de desplazamiento del protón de la aglicona, que lógicamente están afectados por los sustituyentes azúcar(es) y ácido(s), presente(s).

En la Figura 4.4 se muestran los espectros UV-V e IR de las antocianinas de la colorada y en la Figura 4.5 los espectros de absorción en el visible de las antocianinas de los pétalos de las rosas rojas y rosadas.

## 4.6 DISTRIBUCION

Las antocianinas se encuentran principalmente en los frutos y flores de las angiospermas y generalmente como mezcla de ellas.

Las mayores fuentes alimenticias conteniendo antocianinas pertenecen a las familias Vitaceae (uva) y Rosaceae (fresa, cereza, manzana, pera, etc.); otras familias en las que se encuentran son las Oleaceae (olivo negro), Cruciferae (calabaza roja, repollo morado), Solanaceae (tomacillo, papas, camotes), etc.

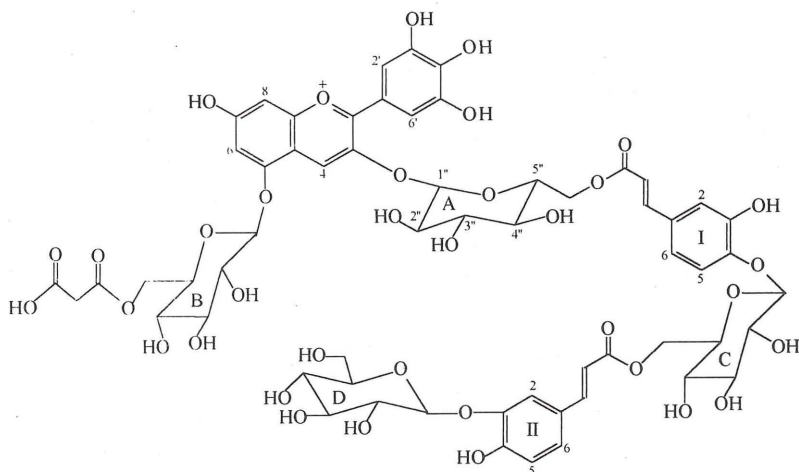
Tabla 4.1. Propiedades de las antocianidinas comunes<sup>1</sup>

Antocianidina	Rf(x100) en			Color Visible	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm en MeOH-HCl
	Forestal	Fórmico	BAW		
Pelargonidina	68	33	80	rojo	530
Cianidina	49		68	magenta	535
Peonidina	63	30	71	magenta	532
Delfinidina	32	13	42	púrpura	546
Petunidina	46	20	52	púrpura	543
Malvidina	60	27	58	púrpura	542

Tabla 4.2. Propiedades de las antocianinas comunes<sup>1</sup>

Antocianina	Rf(x100)				$\lambda_{\text{máx}}$ , nm en MeOH-HCl
	BAW	Bu.HCl	HOAc-HCl	1% HCl	
Pelargonidin-					
3-glucósido	44	38	35	14	506
3,5-diglucósido	31	14	45	23	504
5-glucósido	51	49	57	18	513
7-glucósido	46	51	—	15	508
3,7-diglucósido	30	10	70	38	497
Cianidin-					
3-glucósido	38	25	42	07	523
3,5-diglucósido	28	06	40	16	522
3-galactósido	37	24	26	07	
Malvidin-					
3-glucósido	38	15	29	06	534
3-galactósido	36	15	29	06	
3,5-diglucósido	31	03	61	34	
Delfinidin-					
3-glucósido	26	11	18	03	534
3-galactósido	23	11	18	03	
3,5-diglucósido	15	03	32	08	

**Tabla 4.3.** Valores espectroscópicos para algunas antocianinas aciladas\*



delfinidina 3-O- (6-O- trans-4-O- (6-O- (trans-3-O- (β-D-glucopiranosil) -cafeil) -β-D-glucopiranosil) -cafeil) -β-D-glucopiranosido) -5-O- ((6-O-malonil) -β-D-glucopiranosido)<sup>10</sup>, C<sub>60</sub>H<sub>65</sub>O<sub>36</sub>

conformado por delfinidina (1) + glucosa (4) + ácido cafeico (2) + ácido malónico (1)

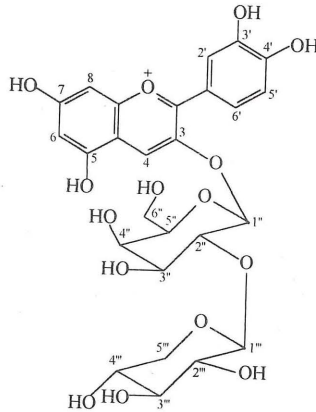
$\lambda_{\text{máx}}$  (0,1% HCl-MeOH) 546, 320, 282 nm

RMN-<sup>1</sup>H (CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D:DMSO-d<sub>6</sub> 1:9, 400 MHz),  $\delta$ ppm

H-4	8,77 (s)
H-6	6,98 (s.a.)
H-8	7,09 (s.a.)
H-2'	7,75 (s)
H-6'	7,75 (s)

\* Se está señalando los valores de RMN-<sup>1</sup>H solamente de las antocianidinas; el lector podrá encontrar en las referencias bibliográficas los valores correspondientes a los azúcares y otros grupos sustituyentes.

continúa Tabla 4.3



cianidin 3-lactirósido ó

cianidin 3-xiloxilgalactósido<sup>23</sup>, C<sub>26</sub>H<sub>29</sub>O<sub>15</sub>

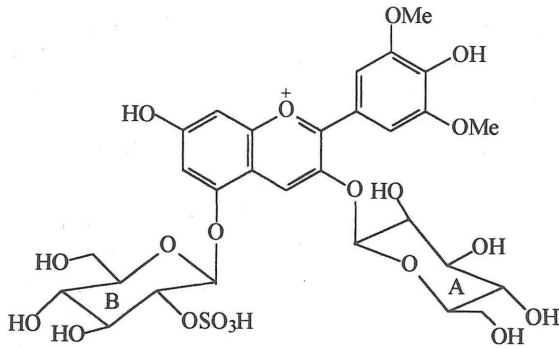
conformado por cianidina (1) + xilosa (1) + galactosa (1)

$\lambda_{\text{máx}}$  (0,01% HCl-MeOH) 530, 282 nm

RMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>:CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D, 9:1, 400 MHz),  $\delta$ ppm

H-4	8,81 (s)
H-6	6,69 (d, J=1,8 Hz)
H-8	6,89 (m)
H-2'	7,99 (d, J=1,8 Hz)
H-5'	7,00 (d, J=8,8 Hz)
H-6'	8,29 (dd, J=1,8, 8,8 Hz)

continúa Tabla 4.3

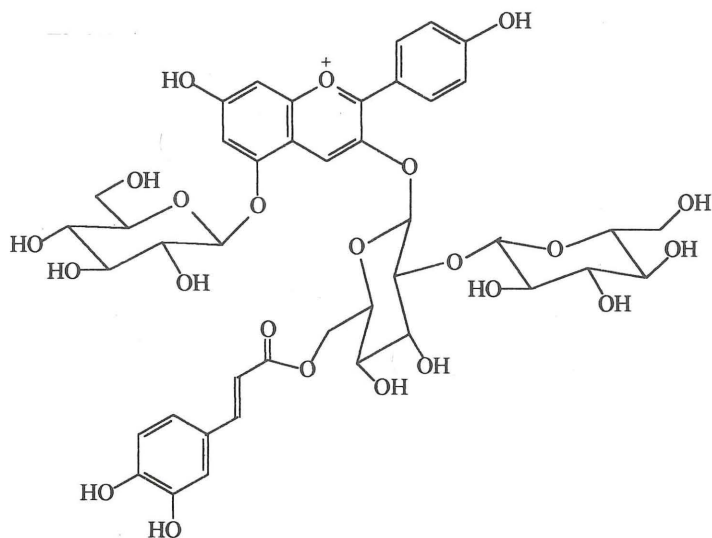
malvidin 3-glucósido-5-(2''-sulfato-glucósido)<sup>11</sup>, C<sub>29</sub>H<sub>35</sub>O<sub>20</sub>S

conformado por glucosa (2) + malvidina (1)

 $\lambda_{\text{máx}}$  (0,1% HCl-MeOH) 537, 276 nmRMN-<sup>1</sup>H (TFA:DMSO-d<sub>6</sub>, 1:9, 400 MHz),  $\delta$ ppm

H-4	9,20 (s)
H-6	6,98 (d, J=2,0 Hz)
H-8	7,24 (d, J=2,0 Hz)
H-2'	7,99 (s)
H-6'	7,99
2MeO-	3,93

continúa Tabla 4.3



pelargonidin 3-O-(6-O-trans-cafeil)-2-O-(β-D-glucopiranosil)-β-D-glucopiranosido)-5-O-(β-D-glucopiranosido)<sup>8</sup>, C<sub>42</sub>H<sub>47</sub>O<sub>23</sub>

conformado por pelargonidina (1) + ácido cafeico (1) + glucosa (3)

$\lambda_{\text{máx}}$  (0,1% HCl-MeOH) 550, 509, 331, 288 nm

RMN-<sup>1</sup>H (CF<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>D:DMSO-d<sub>6</sub> 1:9), δppm

H-4	8,81 (s)
H-6	7,07 (s.a.)
H-8	6,98 (s.a.)
H-2'/ H-6'	8,57 (d, J=8,8 Hz)
H-3'/ H-5'	7,08 (d, J=8,8 Hz)

En la Tabla 4.4 se da una relación de antocianinas y su ocurrencia natural<sup>3,5,24</sup>. Una información más amplia se encuentra en las referencias mencionadas.

La distribución de las antocianinas en las partes comestibles de las plantas se resume como sigue:

- las antocianinas basadas en la cianidina ocurren más frecuentemente;
- el porcentaje de ocurrencia de las antocianinas es aproximadamente de 50% con cianidina, de 12%, para cada una, con pelargonidina, peonidina y delphinidina, y de 7%, cada una, con petunidina y malvidina;
- como glicósidos, los 3-glicósidos tienen una ocurrencia 2,5 veces mayor que los 3,5-diglicósidos, siendo el más común el cianidin-3-glucósido;
- algunas antocianinas notablemente aciladas, 3,5- y 3,7-diglicosidadas, son particularmente estables en ciertas flores azules sin necesidad de copigmentación con metales complejos. Muchas de ellas están basadas en delphinidina, aunque algunas derivadas de peonidina están dotados de esta característica como se observa en los pétalos de *Ipomea tricolor*.

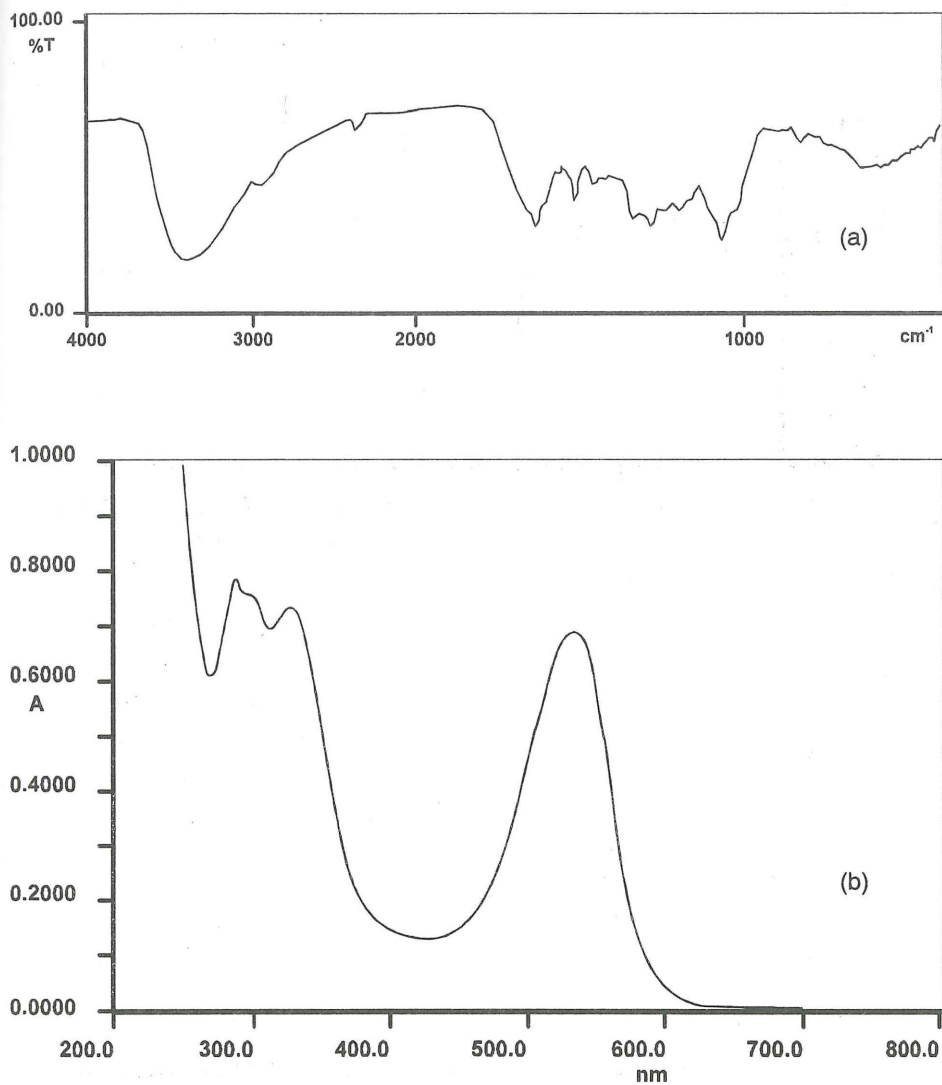


Fig. 4.4 Espectros infrarrojo (a) y ultravioleta-visible (b) de las antocianinas de la col morada

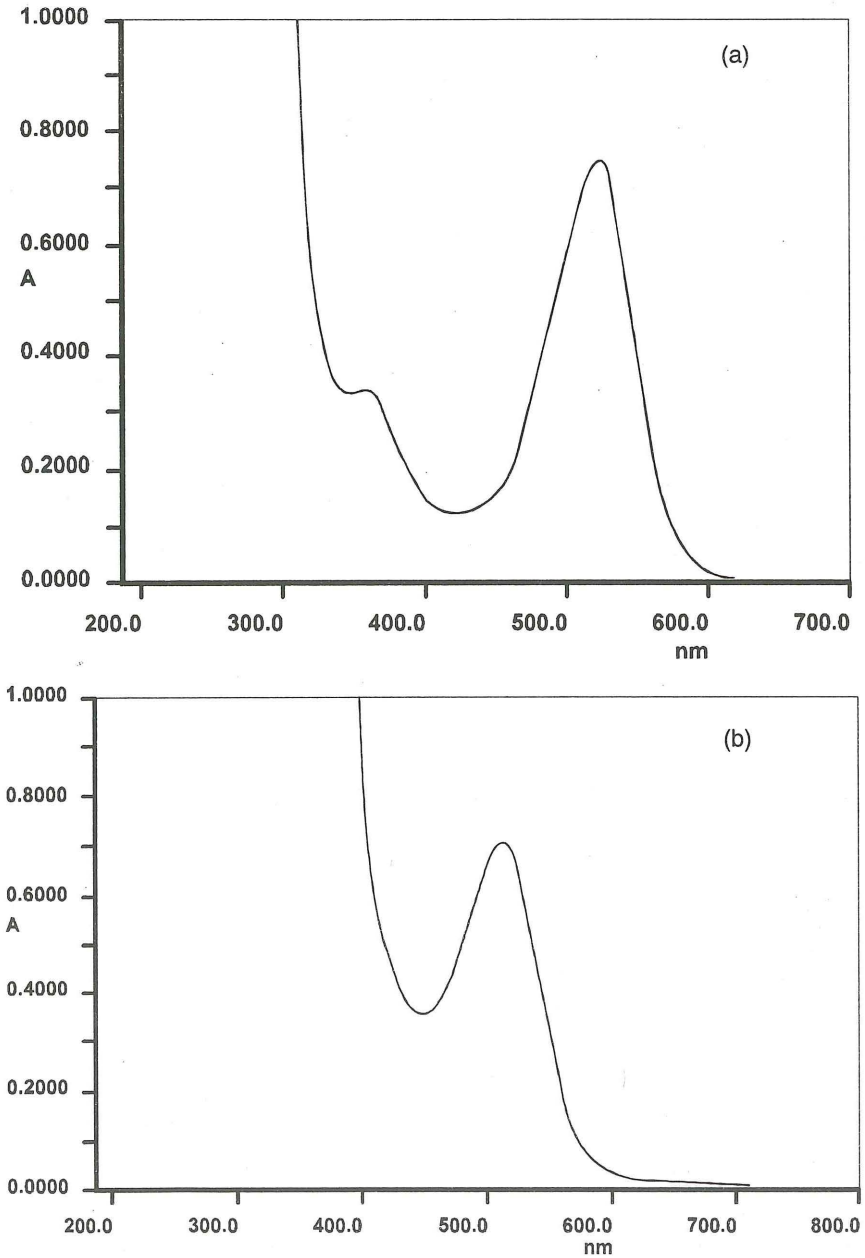


Fig. 4.5 Espectros en el visible de las antocianinas de los pétalos de rosas rojas (a) y rosadas (b)

Tabla 4.4. Algunos ejemplos de antocianinas y su ocurrencia natural<sup>3,5,24,25</sup>

Nombre científico / Nombre común / Ocurrencia	Antocianidinas o Antocianinas presentes
<i>Allium cepa</i> / cebolla / bulbos	Cy 3-glucósido, 3-laminaribiosido
<i>Berberis vulgaris</i> / agracejo / hojas	Cy, Pn, Dp 3-glucósidos
<i>Brassica oleraceae</i> / calabaza roja / hojas	Cy 3-soforósido-5-glucósido acilados con malonoil, p-coumaroil, di-p-coumaroil, feruloil, diferuloil, sinapoil y disinapoil
<i>Cyphomandra betaceae</i> / berenjena / piel o cáscara	Cy, Pg, Dp 3-glucósidos y 3-rutinósidos
<i>Cynara scolymus</i> / alcachofa / frutos	Cy 3-cafeoilglucósido, 3-cafeoil soforósido, 3-dicafeoilsoforósido
<i>Citrus sinensis</i> / naranja / piel o cáscara	Cy y Dp 3-glucósidos
<i>Ficus carica</i> / higo /epidermis frutos	Pg 3-ramnoglucósido, Cy 3-glucósido, 3-ramnoglucósido, 3,5-diglucósido
<i>Fragaria spp.</i> / fresa / frutos	Pg y Cy 3-glucósidos
<i>Ipomea batatas</i> / camote / raíces	Cy y Pn 3-(dicafeil soforósido)-5-glucósido, Cy y Pn 3-(6,6'-cafeil-ferulilsoforósido)-5-glucósido, Cy y Pn 3-O-(6-O-trans-cafeil-2-O-β-glucopiranosil-β-glucopiranosido)-5-O-β-glucósido
<i>Malus pumila</i> / manzana / piel o cáscara	Cy 3-glucósido, 3-xilosido, 3-galactósido, 3- y 7-arabinósidos; libres y acilados
<i>Mangifera indica</i> / mango / fruto	Pn 3-galactósido
<i>Morus nigra</i> / mora / frutos	Cy 3-glucósido
<i>Olea europea</i> / aceituna / frutos	Cy 3-glucósido
<i>Passiflora edulis</i> / maracuyá / frutos	Cy 3-glucósido

continúa Tabla 4.4

<i>P. quadrangularis</i> / tumbo / flores	Dp, Pt, Mv 3-glucósidos, 3,5-diglucósidos
<i>Prunus avium</i> / cereza / frutos	Cy, Pn 3-glucósidos y 3-rutinósidos
<i>Punica granatum</i> / granada / frutos	Cy, Dp, Pt 3-glucósidos, 3,5-diglucósidos, Pg 3,5-diglucósido
<i>Raphanus sativas</i> / rabanito / raíces	Pg y Cy 3-soforósido-5-glucósidos acilados con p-coumaroil, feruloil y cafeoil ésteres.
<i>Sambucus nigra</i> / sauco /frutos	Cy 3(2-1-xilosilglucósido), sambucianina
<i>Schinus molle</i> / molle / frutos	Cy 3-galactósido,3-rutinósido, Pn 3-glucósido
<i>Solanum tuberosum</i> / papa / tubérculos	Pg, Dp, Pt 3-rutinósidos; Pg, Pn, Pt, Mv 3(p-coumaroilrutinosido)-5-glucósidos
<i>Symphytum officinale</i> / comfrey / flores	Cy, Dp, Mv glicósidos
<i>Vitis vinifera</i> / uva / frutos	Cy, Pn, Dp, Pt, Mv 3-glucósidos, 3-p-coumaroilglucósidos, 3,5-diglucósidos, Mv 3,5-acetilidiglucósido
<i>Zea mays</i> / maíz morado / mazorca	Cy, Pg y Pn 3-glucósidos, Cy 3- galactósido; libres y acilados

## REFERENCIAS

1. Harborne, J.B. (1973) *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London.
2. Willstätter, R., Everest, A.E. (1913) Justus Liebigs. *Ann. Chem.* 401, 189-232.
3. Hrazdina, G. (1982) Anthocyanins. En *The Flavonoids*, (Harborne, J.B., Mabry, T.J., eds.) Chapman and Hall, N.Y. p 135-186.
4. Ribéreau-Gayon, P. (1982) The Anthocyanins of Grapes and Wines. En *Anthocyanins as Food Colors* (Markakis, P., ed.) Academic Press, N.Y., p 209-244.
5. Jackman, R.L., Smith, J.L. (1992) Anthocyanins and Betalains. En *Natural Food Colorants* (Hendry, G.A.F., Houghton, J.D., eds.) Blackie, Glasgow, p 182-215.
6. Harborne, J.B. (1967) *Comparative Biochemistry of the Flavonoids*. Academic Press, N.Y.

7. Brouillard, R. (1982) Chemical Structure of Anthocyanins. En **Anthocyanins as Food Color** (Markakis, P., ed.). *Academic Press, N.Y.*, p 1-40.
8. Sen Lu, T., Saito, N., Yokoi, M., Shigihara, A., Honda, T. (1992) Acylated Pelargonidin Glycosides in the Red-Purple Flowers of *Pharbitis nil*. *Phytochem.* **31**, 289-295.
9. Takeda, K., Harborne, J.B., Waterman, P.G. (1993) Malonylated Flavonoids and Blue Flower Colour in Lupin. *Phytochem.* **34**, 421-423.
10. Toki, K., Saito, N., Kawano, K., Sen Lu, T., Shigihara, A., Honda, T. (1994) An Acylated Delphinidin Glycoside in the Blue Flowers of *Evolvulus pilosus*. *Phytochem.* **36**, 609-612.
11. Toki, K., Saito, N., Ueda, T., Chibana, T., Shigihara, A., Honda, T. (1994) Malvidin 3-glucoside-5-glucoside Sulphates from *Babiana stricta*. *Phytochem.* **37**, 885-887.
12. Toki, K., Saito, N., Kawano, K., Sen Lu, T., Shigihara, A., Honda, T. (1993) An Acylated Cyanidin 3-sophoroside-5-glucoside in the Violet-Blue Flowers of *Pharbitis nil*. *Phytochem.* **33**, 245-247.
13. Toki, K., Saito, N., Iimura, K., Suzuki, T., Honda, T. (1994) (Delphinidin 3-gentiobiosyl) (Apigenin 7-glucosyl) Malonate from the Flowers of *Eichhornia crassipes*. *Phytochem.* **36**, 1181-1183.
14. Harborne, J.B., Williams, C.A. (1995) Anthocyanins and other Flavonoids. *Natural Products Reports.* **12**, 639-657.
15. Toki, K., Takeuchi, M., Saito, N., Honda, T. (1996) Two Malonylated Anthocyanidin Glycosides in *Ranunculus asiaticus*. *Phytochem.* **42**, 1055-1057.
16. Saito, N., Toki, K., Ozden, S., Honda, T. (1996) Acylated Delphinidin Glycosides in the Blue-Violet Flowers of *Consolida armeniaca*. *Phytochem.* **41**, 1599-1605.
17. Saito, N., Tatsuzawa, F., Kasahara, K., Yokoi, M., Iida, Sh., Shigihara, A., Honda, T. (1996) Acylated Peonidin Glycosides in the Slate Flowers of *Pharbitis nil*. *Phytochem.* **41**, 1607-1611.
18. Takeda, K., Yamaguchi, S., Iwata, K., Tsujino, Y., Fujimori, T., Husain, S.Z. (1996) A Malonylated Anthocyanin and Flavonols in the Blue Flowers of *Meconopsis*. *Phytochem.* **42**, 863-865.
19. Markakis, P. (1982) Stability of Anthocyanins in Foods. En **Anthocyanins as Food Color** (Markakis, P., ed.). *Academic Press, N.Y.*, p 163-180.
20. Harborne, J.B. (1958) The Chromatographic Identification of Anthocyanin Pigments. *J. of Chrom.* **1**, 475-488.
21. Francis, F.J. (1982) Analysis of Anthocyanins. En **Anthocyanins as Food Color** (Markakis, P., ed.). *Academic Press, N.Y.*, p 181-207.

22. Williams, M., Hrazdina, G. (1978) High-Pressure Liquid Chromatographic Separation of 3-glucosides, 3,5-diglucosides, 3-(6-0-p-coumaryl) glucosides and 3-(6-0-p-coumaryl-glucoside)-5-glucosides of Anthocyanidins. *J. of Chrom.* 155, 389-398.
23. Terahara, N., Saito, N., Toki, K., Sakata, Y., Honda, T. (1992) Cyanidin 3-lathyroside from Berries of *Fatsia japonica*. *Phytochem.* 31, 1446-1448,
24. Timberlacke, C.F., Bridle, P. (1982) Distribution of Anthocyanins in Food Plants. En **Anthocyanins as Food Color** (Markakis, P., ed.). *Academic Press, N.Y.*, p 125-162.
25. Goda, Y., Shimuzu, T., Kato, Y., Nakamura, M., Maitani, T., Yamada, T., Terahara, N., Yamaguchi, M. (1997) Two Acylated Anthocyanins from Purple Sweet Potato. *Phytochem.* 44, 183-186.

## Capítulo V

# BETALAINAS

### 5.1 INTRODUCCION

El término betalaína describe a dos grupos de pigmentos, muy solubles en agua, relacionados química y biogenéticamente, éstos son, las betacianinas de color rojo violeta ( $\lambda_{\text{máx}} \approx 540 \text{ nm}$ ) y las betaxantinas de color amarillo ( $\lambda_{\text{máx}} \approx 480 \text{ nm}$ ). Aunque la química de estos compuestos fue muy estudiada por numerosos investigadores, los resultados fueron recién satisfactorios en 1957, cuando Wyler y Dreiding<sup>1</sup> aislaron cristales rojo violeta, betanina, de la raíz de *Beta vulgaris*, y en 1964 Piatelli y col.<sup>2</sup> aislaron cristales amarillos, indicaxantina, de los frutos de *Opuntia ficus-indica*. Desde entonces notables avances se hicieron en la química de estos compuestos especialmente durante la década de los 60 y 70<sup>3-15</sup>.

La presencia de estos pigmentos en las plantas tiene gran importancia, ya que su distribución está limitada a 10 familias del orden Cariophyllales o Centrosperma: Aizoaceae, Amaranthaceae, Basellaceae, Cactaceae, Chenopodiaceae, Didieraceae, Holophytaceae, Nyctaginaceae, Phytolacaceae y Portulacaceae<sup>3,16</sup>.

Una observación muy importante en estas plantas es la presencia de betacianinas y la ausencia de antocianinas. Al parecer, las betacianinas y antocianinas no coexisten en la misma planta, ni aún dentro de la misma familia. Sin embargo, pueden coexistir con otras clases de pigmentos flavonoides.

La raíz de *Beta vulgaris* (betarraga) es una fuente rica de betacianina, contiene de 0,4 a 1,0% de pigmento (expresado como betanina); otra fuente potencial es la *Opuntia soeherensii* "ayrampu", cuyas semillas contienen alrededor de 1% de betanina.

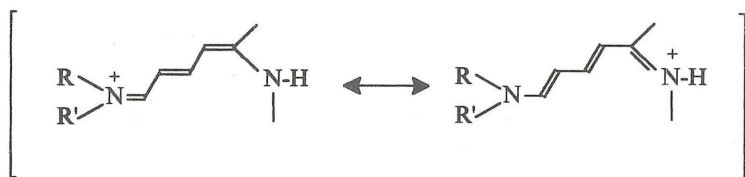
Las betalaínas también se encuentran en algunos hongos, por ejemplo, del hongo venenoso *Amanita muscaria* se han aislado una betacianina, la muscapurpurina, y siete betaxantinas, muscaxantina I-VII<sup>17-20</sup>.

Debemos mencionar que inicialmente cuando se determinó la presencia de nitrógeno en estos pigmentos, se les consideró como "antocianinas nitrogenadas" porque se pensaba incorrectamente que su estructura estaba relacionada a las antocianinas.

A la fecha se conocen alrededor de 50 betacianinas y de 25 betaxantinas.

## 5.2 ESTRUCTURA Y ESTABILIDAD

La estructura del cromóforo en la betalaína es un sistema 1,7-diazaheptametino protonado<sup>2,16,21-23</sup>.

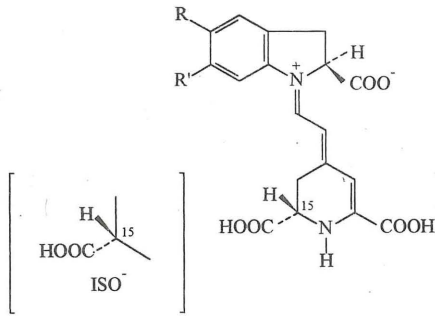


Las betaxantinas, de color amarillo, se caracterizan por tener grupos R y R' que no extienden la conjugación del cromóforo 1,7-diazaheptametino; mientras que en las betacianinas, de color rojo, la conjugación está extendida con un anillo aromático sustituido (ejemplo ciclodopa). Todas las betacianinas están glicosidadas siendo dos las agliconas conocidas, la betanidina y su epímero isobetanidina, aunque últimamente también se ha identificado como constituyente natural, un glucósido de neobetanidina, la 14,15-dehidrobetanidina.

La unidad de azúcar más común es la glucosa, y menos frecuente la soforosa y la ramnosa. Es también común que se encuentren aciladas con grupos sulfúrico, malónico, 3-hidroxi-3-metilglucósido, cítrico, p-cumárico, ferúlico, cafeico y sinápico. La betacianina de mayor ocurrencia natural es la betanina.

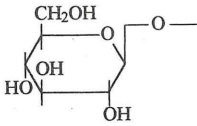
En el caso de las betaxantinas, el sustituyente R' es un grupo amino o aminoácido y R es usualmente un hidrógeno, así: en la vulgaxantina-I de *Beta vulgaris*, R' es un residuo derivado del ácido glutámico y en la indicaxantina del *Opuntia ficus-indica*, R y R' forman un grupo prolina.

En la Figura 5.1 se muestran algunas betacianinas y en la Figura 5.2 se muestran algunas betaxantinas comunes.



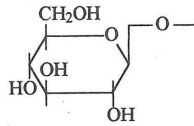
Estructura básica de las betacianinas

R'=OH  
R=β-D-glucosil



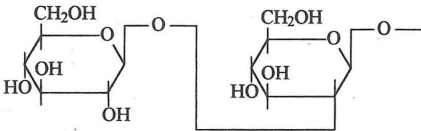
betanina

R=OH  
R'=β-D-glucosil



gompreнина I

R'=OH  
R=2'-O-(ácido β-D-glucosilurónico)-β-D-glucosil-

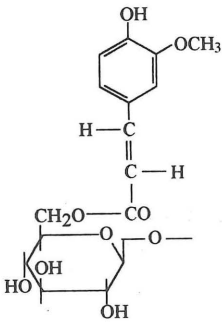


amarantina

Fig. 5.1 Algunas betacianinas

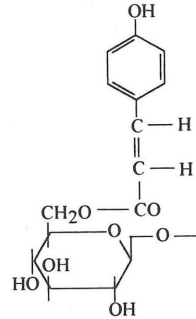
continúa Fig. 5.1

R=OH  
R'=6'-O-(trans-p-feruloil)-  
β-D-glucosil



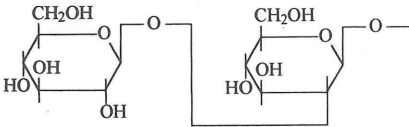
gomprenina V

R=OH  
R'=6'-O-(cis-p-coumaril)-  
β-D-glucosil



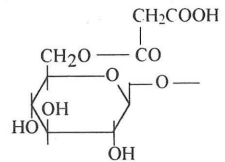
gomprenina II

R'=OH  
R=β-soforosa-



bougainvilleina I

R'=OH  
R=6'-D-(malonil)-β-D-glucosil-



filocactina

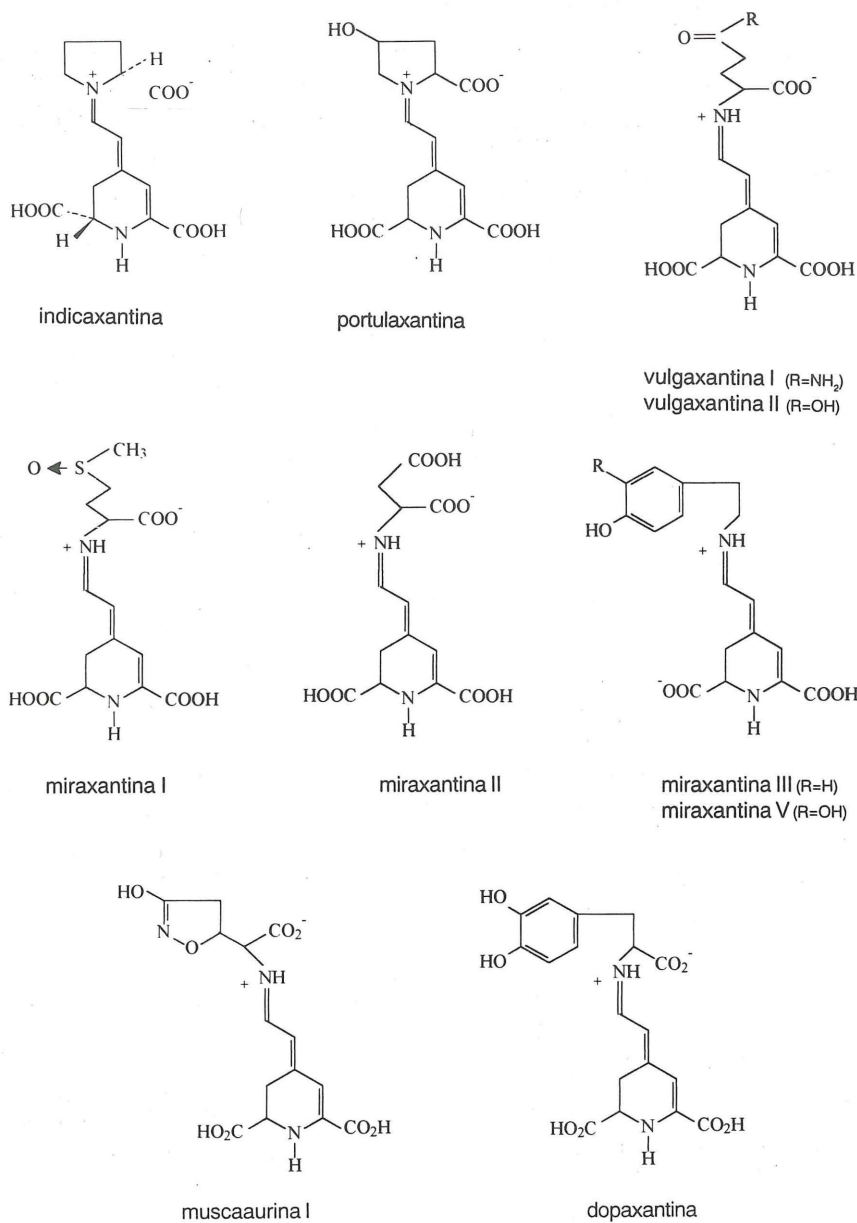


Fig. 5.2 Algunas betaxantinas

### Factores que afectan la estabilidad de las betalaínas <sup>23-27</sup>

La estabilidad de las betalaínas está influenciada por el pH, la temperatura, el oxígeno y la luz. Aunque se han realizado diversos estudios para analizar la influencia de estos factores en las betacianinas, muy pocos se han realizado sobre las betaxantinas.

Para la betanina se ha determinado que a:

- |              |   |
|--------------|---|
| pH 3,0 a 7,0 | el color rojo de la solución permanece inalterado con un $\lambda_{\text{máx}}$ de absorción entre 537-538 nm.  |
| pH < 3,0     | el color cambia a violeta y el $\lambda_{\text{máx}}$ es desplazado a 534-536 nm, ocurriendo un decrecimiento en la intensidad.   |
| pH > 7,0     | el color de la solución se hace más azulado, habiendo un desplazamiento batocrómico en el $\lambda_{\text{máx}}$ , siendo mayor el efecto a pH 9,0 donde el $\lambda_{\text{máx}}$ ocurre a 543-544 nm (Fig. 5.3).  |
| pH > 10,0    | hay un decrecimiento en intensidad en el $\lambda_{\text{máx}}$ de 540-550 nm y hay incremento en la absorción a 400-460 nm debido a la liberación del ácido betalámico, el cual es amarillo; por lo que hay un cambio del color de azul a amarillo como resultado de la hidrólisis alcalina de betanina a ácido betalámico y ciclodopa-5-0-glucósido (Fig. 5.4). |

La termolabilidad de las betalaínas es probablemente el factor que más restringe su uso como colorante de alimentos; en general, la estabilidad térmica es mayor entre pH 5,0 y 6,0 en la presencia de oxígeno, y entre pH 4,0 y 5,0 en ausencia de oxígeno. La exposición de las betalaínas a la luz UV y luz visible también producen su degradación.

### 5.3 BIOSINTESIS

Se ha determinado que una molécula de L-DOPA sufre un rompimiento del anillo y una reciclización para dar el ácido betalámico que contiene el anillo de dehidropiridina característico de las betalaínas.

La subsiguiente condensación del ácido betalámico con la ciclodopa produce la betanidina, y con otras aminas o amino ácidos diferentes a la ciclodopa, produce las betaxantinas (Fig. 5.5)<sup>22</sup>.

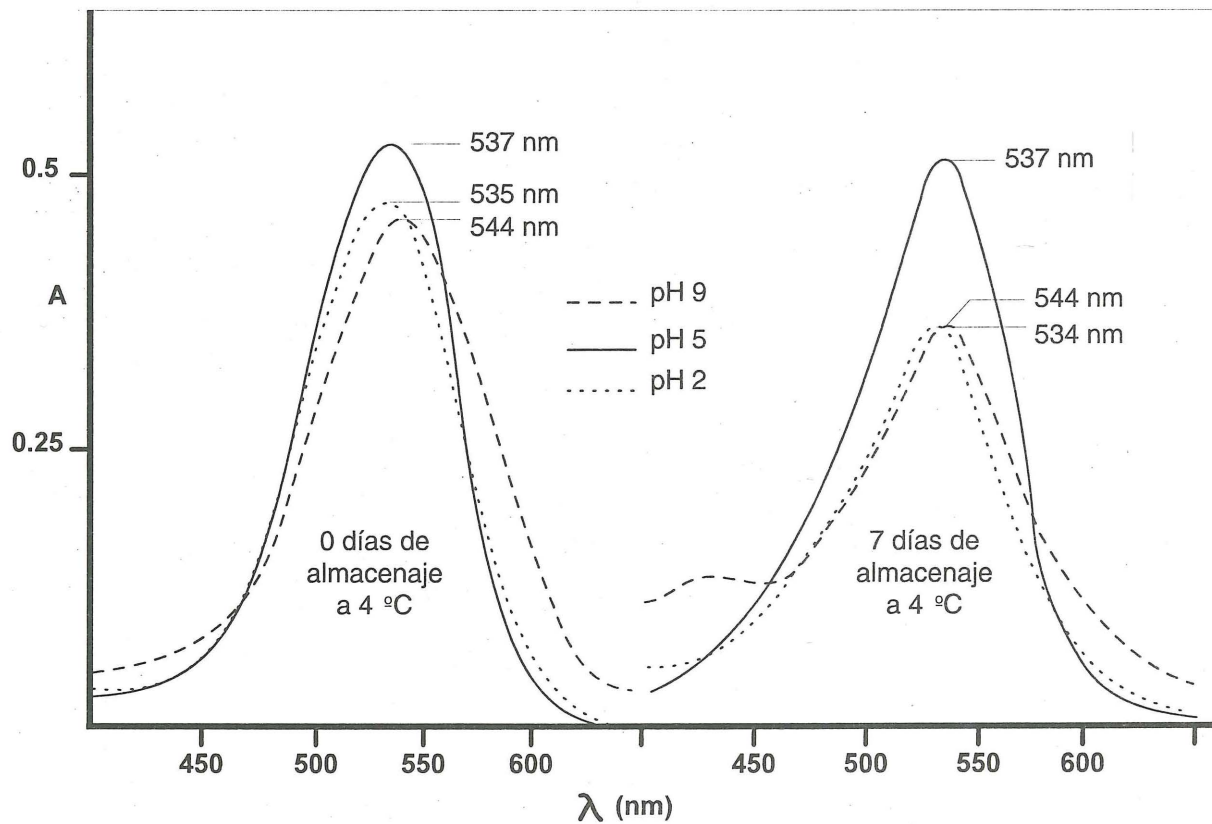


Fig. 5.3 Espectro en el visible de la betanina a pH 2,0, 5,0 y 9,0

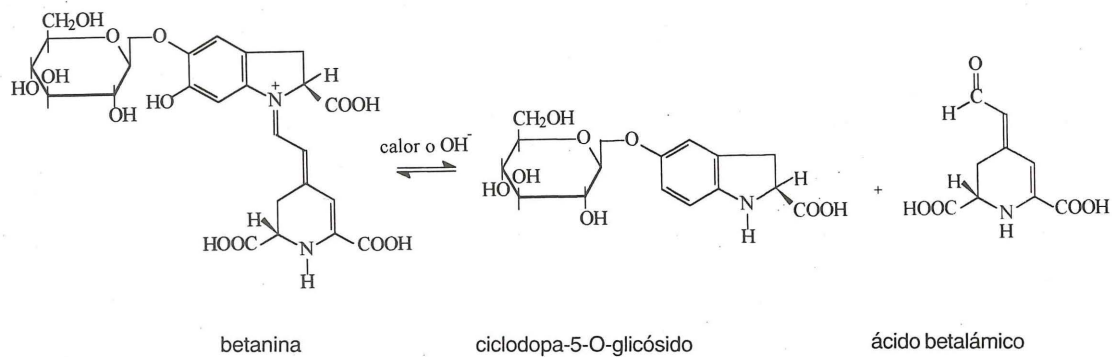


Fig. 5.4 Mecanismo de degradación de la betanina

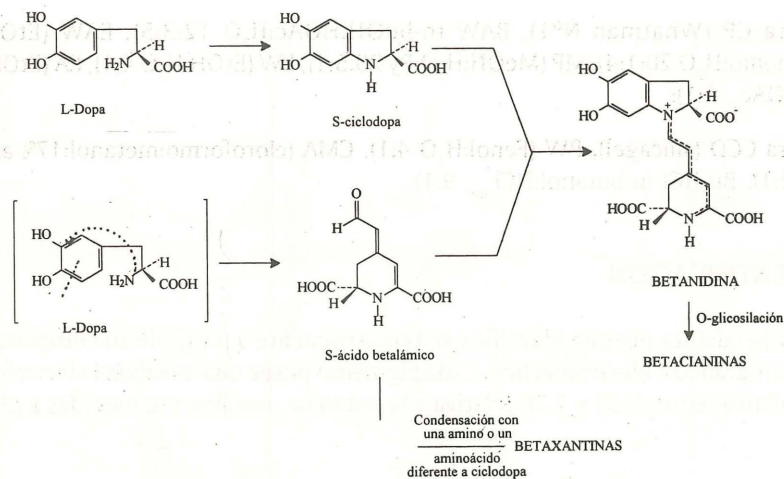


Fig. 5.5 Esquema biosintético de las betalainas

## 5.4 EXTRACCIÓN Y PURIFICACION

Muchos ensayos para aislar betalainas se realizaron en la primera mitad de este siglo, pero recién se obtuvieron buenos resultados alrededor de los años 60 al usar electroforesis preparativa; otro método consistió en hacer separaciones preliminares del extracto acuoso por absorción sobre resina fuertemente ácida (ejemplo Dowex 50W) y subsiguiente cromatografía en una columna de poliamida, usando concentraciones crecientes de metanol en ácido cítrico acuoso como agente de desarrollo; las fracciones son liberadas del ácido cítrico acuoso por tratamiento con resina, concentrando al vacío y dejando cristalizar<sup>21,22</sup>.

Se reportan otros métodos para la separación de la betanina del *Beta vulgaris*: procedimiento de extracción-difusión, procedimiento de extracción fraccionada con etanol acidificado y más recientemente aplicando la cromatografía líquida de alta performance (HPLC) en fase reversa<sup>23,31,32</sup>. Esta última ha sido aplicada también para la separación de betaxantinas, logrando mejores resultados que con los métodos de separación tradicionales<sup>23,28,29</sup>.

En la separación de los pigmentos de *Opuntia soehersensii Britt*, "ayrampu"<sup>26</sup> y del *Amaranthus caudatus var. atropurpurea*, "kiwicha"<sup>30</sup>, dieron buenos resultados la cromatografía sobre gel de Sephadex y elución por gradiente con soluciones de NaCl de 0,3 a 1,0 M<sup>19,31,32</sup>.

La detección de las betalainas por CP y CCD se puede realizar utilizando los siguientes sistemas cromatográficos<sup>26,33</sup>:

- para CP (Whatman N°1), BAW (n-buOH:HOAc:H<sub>2</sub>O 12:3:5), EAW (EtOH:33% Amonio:H<sub>2</sub>O 20:1:4), MP (MeOH:H<sub>2</sub>O:Py 20:5:1), EW (EtOH:H<sub>2</sub>O 4:1), EA (EtOH:0,3% NaOAc<sub>ac</sub> 4:1);
- para CCD (sílicagel), PW (Fenol:H<sub>2</sub>O 4:1), CMA (cloroformo:metanol:17% amonio 2:2:1), Bu.HCl (n-butanol:HCl<sub>conc</sub> 9:1).

## 5.5 IDENTIFICACION

Las betalaínas pueden identificarse tentativamente a partir de su comportamiento cromatográfico o electroforético. Cada pigmento posee una movilidad electroforética característica, entre 0,30 y 1,78 relativa a la betanina, usualmente medidas a pH 4,5 y 2,4.

La información obtenida puede corroborarse a través de los espectros de absorción en el visible; las betacianinas muestran absorción intensa entre 534 y 552 nm, y las betaxantinas entre 474 y 486 nm. Las betalaínas aciladas generalmente exhiben un segundo máximo de absorción en el UV, entre 260 a 320 nm. Algunos valores de  $\lambda_{\text{máx}}$  se señalan en la Tabla 5.1<sup>3</sup> y en la Figura 5.6 se encuentra el espectro en el visible de la amarantina<sup>20</sup>.

El espectro infrarrojo no es de mucha utilidad puesto que estos compuestos presentan casi los mismos grupos funcionales y sus espectros son muy parecidos. La espectroscopía de resonancia magnética nuclear podría dar buena información pero su uso está limitado por la baja solubilidad de estos compuestos en solventes orgánicos y por su fácil descomposición. Algunos valores característicos se presentan en las Tablas 5.2 a 5.4<sup>8,34-36</sup>.

La diferenciación entre betacianinas y antocianinas puede hacerse a través de una electroforesis, ya que las betacianinas migran hacia el ánodo mientras que las antocianinas migran hacia el cátodo. Otros ensayos simples de coloración pueden ser también útiles para esta diferenciación (Tabla 5.5)<sup>3</sup>.

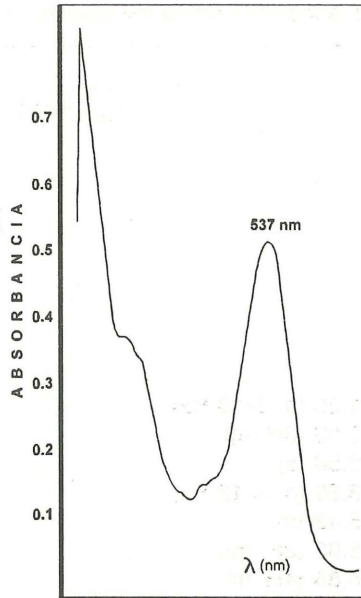
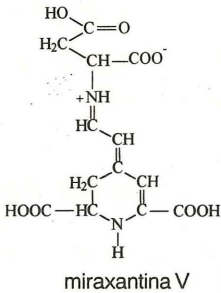


Fig. 5.6 Espectro ultravioleta-visible de la amarantina

Tabla 5.1. Valores de  $\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$  de betacianinas y betaxantinas comunes

Betalaína	$\lambda_{\text{m\acute{a}x}}$ , nm	Color del pigmento purificado
betanina	536-538	rojo-violeta
amarantina	536-540	rojo-violeta
bougainvillein-v	542-546	violeta-rojizo
bougainvillein-r	532-534	rojo-violeta
gomprenina	535-537	
vulgaxantina I	477	
vulgaxantina II	478	
indicaxantina	485	
miraxantina II	477	
miraxantina III	473,5	
miraxantina IV	473,5	
miraxantina V	475,5	
miraxantina VI	477	

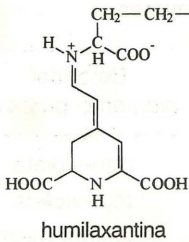
**Tabla 5.2.** Valores espectroscópicos para la miraxantina V<sup>8</sup>



H<sub>2</sub>O  
λ<sub>máx'</sub> 475,5 nm

RMN- <sup>1</sup> H	
H-10	1,20 (d, J=13 Hz)
H-2, H-5, H-6	3,03 (3H, m)
H-17	3,50 (s)
H-11	3,65 (d, J=13 Hz)
H-14	5,42 (m)
H-8	5,92 (2H, m)
H-7, H-13	6,88 (4H, m)

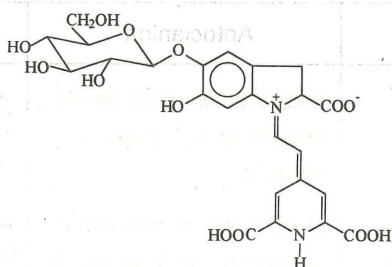
**Tabla 5.3.** Valores espectroscópicos para la humilaxantina<sup>34</sup>



H<sub>2</sub>O  
λ<sub>máx'</sub> nm, 258, 463 h, 483

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD + DCI trazas), δppm

		acoplamiento	
		protones	Hz
H-2	4,90		
H-3	2,52-2,34	7,8	12,1
H-4	2,27-208	10a,11	5,5
H-5	4,10-3,75	10b,11	7,1
H-7	8,61	10a,10b	17,2
H-8	6,23		
H-10a	3,52		
H-10b	3,16		
H-11	4,53		
H-14	6,42		

Tabla 5.4. Valores espectroscópicos para la neobetanina<sup>35,36</sup>

neobetanina

5-O- $\beta$ -D-glucopiranosilneobetanidinaRMN-<sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz),  $\delta$ ppm

H-11	8,433 (1H, d, $J_{11,12}=13,3$ Hz)
H-14/H-18	7,982 (2H, s. a.)
H-7	7,321 (1H, s)
H-4	7,006 (1H, s)
H-12	5,595 (1H, d)
H-2	4,811 (1H, dd, $J_{2,3A}=10$ Hz, $J_{2,3B}=2,5$ Hz)
H-1'	4,546 (1H, d, $J_{1',2}=6,8$ Hz)
H-6'A	3,716 (1H, d, $J_{6'A,6'B}=12$ Hz)
H-3A	3,491 (1H, dd, $J_{3A,3B}=16$ Hz)
H-6'B	3,479 (1H, dd, $J_{6'B,5'}=6$ Hz)
H-2'/H-3'/H-5'	3,31-3,23 (3H, m)
H-4'	3,148 (1H, dd, $J_{3',4'}=9$ Hz, $J_{4',5'}=9$ Hz)
H-3B	3,022 (1H, dd)

**Tabla 5.5.** Ensayos simples de coloración para la diferenciación de antocianinas y betacianinas<sup>3</sup>

Ensayo	Antocianina	Betacianina
adición de álcali (KOH, NaOH)	decoloración lenta de violeta, via azul y verde, a amarillo	decoloración rápida a amarillo
reacidificación de la solución alcalina después de unos minutos	el color rojo puede ser regenerado con la acidificación	el color rojo no es regenerado con la acidificación (podría regenerarse parcialmente si hay una inmediata reacidificación)
adición de amoniaco	igual comportamiento que con los otros álcalis	el color permanece violeta por algún tiempo, en frío
adición de ácidos minerales	solución viene a ser un rojo más claro	solución viene a ser un violeta más oscuro
adición de acetato de plomo	ppdo. azul-verdoso o azul-grisáceo	ppdo. rojo-marrón
a pH 7.0	solución decolora lentamente	solución permanece violeta
distribución entre agua y alcohol amílico	la fase alcohol amílico adquiere color rojo a pH ácido	la fase alcohol amílico no adquiere el color rojo
extracción del material seco		
a) con alcohol absoluto	se extrae algo del color rojo	no se extrae el color rojo
b) con agua destilada	se extrae algo del color, siendo el extracto de color verdoso, que se vuelve rojo con acidificación	el color rojo es extraído rápidamente

## REFERENCIAS

1. Wyler, H., Dreiding, A.S. (1957) Kristallisiertes Betanin. *Helv. Chim. Acta.* **40**, 191-196.
2. Piatelli, M., Minale, L., Prota, G. (1964) Isolation, Structure and Absolute Configuration of Indicaxanthin. *Tetrahedron.* **20**, 2325-2329.
3. Dreiding, A.S. (1961) The Betacyanins, a Class of Red Pigments in the Centrospermae. En *Chemistry of Natural Phenolic Compounds* (Ollis, ed.). *Pergamon Press*, p 195-211.
4. Wyler, H., Dreiding, A.S. (1961) Phytolaccanin, der Farbstoff der Kermesbeere (*Phytolacca decandra* L.). *Helv. Chim. Acta.* **44**, 249-257.
5. Piatelli, M., Minale, L. (1964) Pigments of Centrospermae II. Distribution of Betacyanins. *Phytochem.* **3**, 547-557.
6. Piatelli, M., Minale, L., Prota, G. (1964) Isolamento e Struttura dell'Amarantina e dell'Isoamarantina. *Annali di chimica.* **54**, 963-968.
7. Piatelli, M., Minale, L. (1964) Pigments of Centrospermae - I. Betacyanins from *Phyllocactus hybridus* Hort and *Opuntia ficus-indica* Mill. *Phytochem.* **3**, 307-311.
8. Piatelli, M., Minale, L., Nicolaus, R.A. (1965) Pigments of Centrospermae - V. Betaxanthins from *Mirabilis jalapa* L. *Phytochem.* **4**, 817-823.
9. Piatelli, M., Minale, L., Prota, G. (1964) Pigments of Centrospermae - III. Betaxanthins from *Beta vulgaris*. *Phytochem.* **4**, 121-125.
10. Wilcox, M.E., Wyler, H., Mabry, T.J., Dreiding, A.S. (1965) Die Struktur des Betanins. *Helv. Chem. Acta.* **48**, 252-258.
11. Minale, L., Piatelli, M., De Stefano, S. (1967) Pigments of Centrospermae - VIII. Betacyanins from *Gomphrena globosa* L. *Phytochem.* **6**, 703-709.
12. Piatelli, M., Impellizzeri, C. (1969) Betacyanins from *Lampranthus* sp. (Aizoaceae). *Phytochem.* **8**, 1595-1596.
13. Piatelli, M., Imperato, F. (1969) Betacyanins of the Family Cactaceae. *Phytochem.* **8**, 1503-1507.
14. Piatelli, M., Imperato, F. (1970) Pigments of *Bougainvillea glabra*. *Phytochem.* **9**, 2557-2560.
15. Piatelli, M., Imperato, F. (1970) Betacyanins from *Bougainvillea*. *Phytochem.* **9**, 455-458.
16. Reznik, H. (1957) Die Pigmente der Centrosperm als Systematisches Element. *Planta.* **49**, 406-434.
17. Döpp, H., Musso, H. (1974) Chromatographic Analysis of Betalains Pigments in Toadstools and Higher Plants. *Z. Naturforsch.* **29**, 640-642.

18. Döpp, H., Musso, H. (1973) Isolierung und Chromophore der Farbstoffe aus *Amanita muscaria*. *Chem. Ber.* **106**, 3473-3482.
19. Musso, H. (1979) The Pigments of Fly Agaric, *Amanita muscaria*. *Tetrahedron.* **35**, 2843-2853.
20. von Ardenne, R., Döpp, H., Musso, H., Steglich, W. (1974) Isolation of Muscaflavin from *Hygrocybe* Species (Agaricales) and its Dihydroazepine Structure. *Z. Naturforsch.* **29**, 637-639.
21. Piatelli, M. (1976) Betalains. En **Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments** (Goodwin, T.W., ed.) *Academic Press, N.Y.*, p 560-595.
22. Mabry, T.J. (1980) Betalains. En **Secondary Plant Products. Encyclopedia of Plant Physiology.** (Bell, E.A., Charlwood, B.V., eds.), *Springer-Verlag, Berlin*, p 513-533.
23. Jackman, R.L., Smith, J.L. (1992) Anthocyanins and Betalains. En **Natural Food Colorants** (Hendry, G.A.F., Houghton, J.D., eds.) *Blackie, Glasgow*, p 182-215.
24. von Elbe, J.H., Maing, I.J., Amundson, C.H. (1974) Color Stability of Betanin. *J. of Food Science.* **39**, 334-336.
25. Pash, J.H., von Elbe, J.H. (1979) Betanine Stability in Buffered Solutions Containing Organic Acids, Metal Cations, Antioxidants, or Sequestrants. *J. of Food Science.* **44**, 72-74.
26. Tipe, O., Lock de Ugaz, O. (1990) Estudio de la Estabilidad del Extracto de Ayrampo (*Opuntia soeherensii* Britt) y de la Betanina. *Bol. Soc. Quim. del Perú.* **56**, 27-45.
27. Singer, J.W., von Elbe, J.H. (1980) Degradation Rates of Vulgaxanthine I. *J. of Food Science.* **45**, 489-491.
28. Wiley, R.C., Ya-Nien Lee (1978) Recovery of Betalains from Red Beets by a Diffusion-Extraction Procedure. *J. of Food Science.* **43**, 1056-1058.
29. Wiley, R.C., Ya-Nien Lee, Saladini, J.J., Wyss, R.C., Topalian, H.H. (1979) Efficiency Studies of a Continuous Diffusion Apparatus for the Recovery of Betalains from the Red Table Beet. *J. of Food Science.* **44**, 208-212.
30. Ubillas, R., Lock de Ugaz, O. (1989) Separación de Pigmentos del *Amaranthus caudatus* var. *atropurpurea*. *Bol. Soc. Quim. del Perú.* **55**, 1-12.
31. Coloma, J. (1977) Separation of Betalains using a Method based on Sephadex Column Chromatography Applied to *Amaranthus caudatus* L. var *pendula* Seedlings. *Z. Pflanzenphysiol.* **85**, 227-232.
32. Adams, J.P., von Elbe, J.H. (1977) Betanine Separation and Quantification by Chromatography on Gels. *J. of Food Science.* **42**, 410-414.
33. Bilyk, A. (1981) Thin Layer Chromatographic Separation of Beet Pigments. *J. of Food Science.* **46**, 298-299.

34. Strack, D., Schmitt, D., Reznik, H., Boland, W., Grotjchn, L., Wray, V. (1987) Humilaxanthin, a new Betaxhantin from *Rivina humilis*. *Phytochem.* 26, 2285-2287.
35. Strack, D., Engel, V., Wray, V. (1987) Neobetanin: a new Material Plant Constituent. *Phytochem.* 26, 2399-2400.
36. Alard, D., Wray, V., Grotjchn, L., Reznik, H., Strack, D. (1985) Neobetanin: Isolation and Identification from *Beta vulgaris*. *Phytochem.* 24, 2383-2385.



## Capítulo VI

# QUINONAS

### 6.1 INTRODUCCION <sup>1-8</sup>

Las quinonas naturales son un grupo de compuestos cuya coloración puede ser desde el amarillo pálido hasta casi negro, siendo la mayoría de color amarillo a rojo y muy raros los de color verde y azul. Se encuentran frecuentemente en la corteza y/o en el corazón de la madera o de la raíz, y en algunos pocos casos en las flores y hojas, donde su color está enmascarado por otros pigmentos. En general, están ampliamente distribuidas, pero contribuyen en muy pequeña extensión a la coloración de las plantas superiores, a diferencia por ejemplo de los carotenoides y antocianinas; en cambio hacen mayor contribución en las bacterias, hongos y líquenes. Debemos mencionar que algunos organismos marinos invertebrados de la clase Echinodermis (estrella del mar, erizo) o Moluscos (calamar) y algunos insectos contienen quinonas, como el *Dactilopius coccus* Costa "cochinilla" caracterizado por la presencia del ácido carmínico o del "kermes" que contiene ácido kermésico.

Para detectar la presencia de quinonas es suficiente una simple reacción de color basada en sus propiedades redox; así, la reducción a un producto incoloro (o menos intensamente coloreado) y la fácil regeneración de su color por oxidación es característico y distintivo de ellas (en comparación a otros compuestos naturales coloreados). La reducción puede efectuarse con solución neutra o alcalina de ditionito de sodio u otros agentes reductores, y la oxidación con peróxido de hidrógeno o la simple agitación -al aire- de la solución.

Las quinonas han sido conocidas desde Antiguo por sus propiedades tintóreas. Están consideradas dentro del grupo de colorantes para mordiente, siendo la más antigua conocida la alizarina, que presenta un comportamiento poligenético, esto es,

da diferentes colores con distintos mordientes. Así, con un mordiente de magnesio da color violeta, de calcio da color rojo púrpura, de bario da azul, de aluminio da rojo claro, de cromo da violeta parduzco, de hierro ferroso da violeta negruzco.

Algunas quinonas presentan además otras propiedades, como la emodina que es catártica, la shikonina es antimicótica, la rhein bajo la forma de diacetato es antirreumática, la plumbagina es muy activa para la leishmaniasis, el lapachol es citostático, bacteriostático y fungistático.

## 6.2 ESTRUCTURA

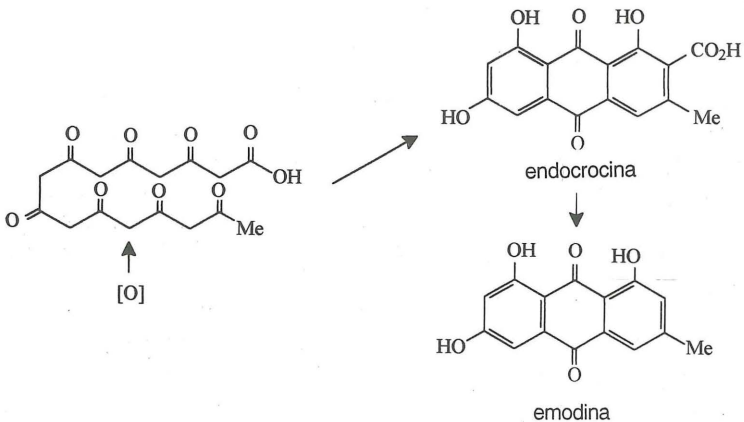
Las quinonas se subdividen en benzoquinonas, naftoquinonas, antraquinonas y quinonas isoprenoide. Aunque también existen, en menor proporción, otras quinonas policíclicas basadas en sistemas como fenantreno, naftaceno, pentaceno, perileno, entre otras.

Se presentan mayormente al estado libre, las hidroxiladas pueden estar glicosidadas, pueden contener otros grupos funcionales, anillos de furano o pirano, pueden encontrarse como dímeros, ser parcialmente reducidas como los antranoles y las antronas, etc. (Fig. 6.1).

En la Figura 6.2 se dan otros ejemplos de quinonas. Algunos de ellos tienen señalado su Color Index (C.I.).

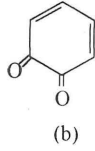
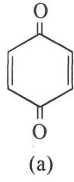
## 6.3 BIOSINTESIS

Se asume que la mayoría de las antraquinonas son elaboradas a través de la ruta acetato-malonato tal como podemos observar en la endocrocina y emodina, forma-



• benzoquinonas

(a) p-benzoquinona; (b) o-benzoquinona



• naftoquinonas

(c) simple ; (d,e) furanonaftoquinona  
(f,g) piranonaftoquinona ; (h,i) dimera

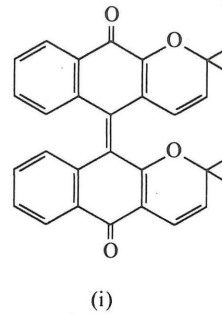
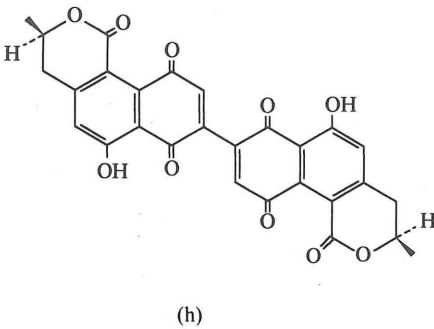
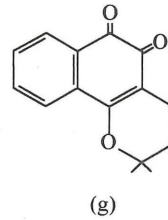
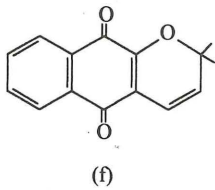
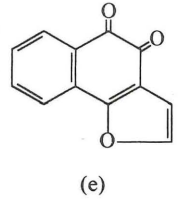
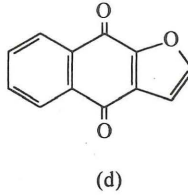
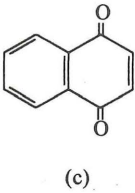
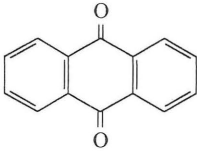


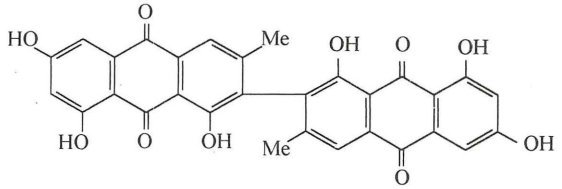
Fig. 6.1 Quinonas diversas

continúa Fig. 6.1

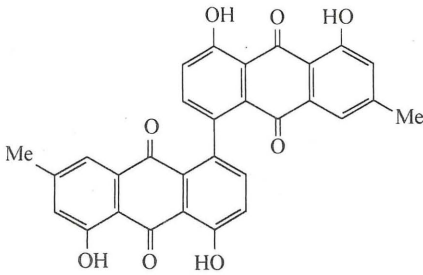
- antraquinonas (j) simple; (k,l,m) dimera; (n) reducida (antrona)



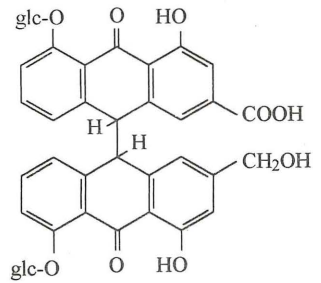
(j)



(k)

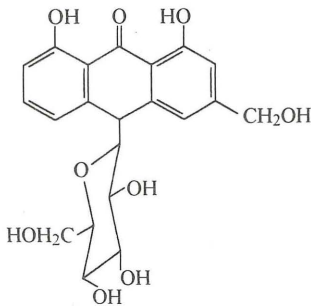


(l)

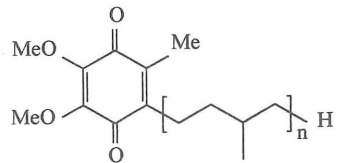


(m)

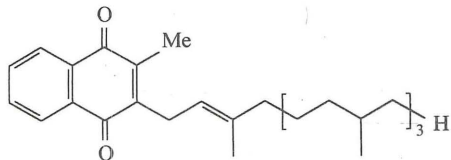
- quinonas isoprenoides (o,p)



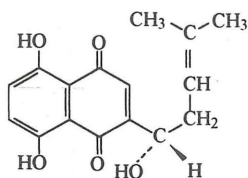
(n)



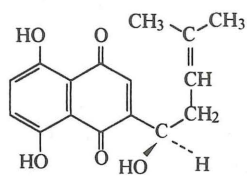
(o) ubiquinona  
(n=1a12)



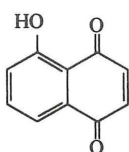
(p) filoquinona  
(vitamina K)



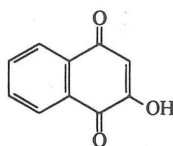
alcanina  
(de *Alkanna tinctoria*)  
C.I. 75530



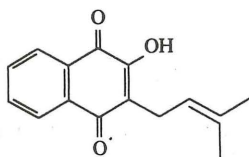
shikonina  
(de *Lithospermum erythrorhizon*)  
C.I. 75535



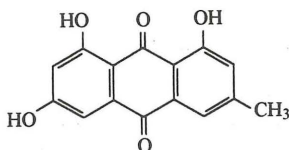
juglona  
(de *Juglans regia*)



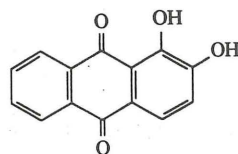
lawsona  
(de *Lawsonia alba*)  
C.I. 75480



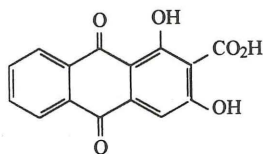
lapachol  
(en especies de *Tecoma* y *Tabebuia*)  
C.I. 75490



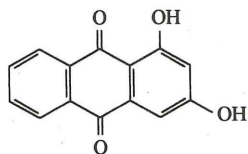
emodina  
(de *Rhamnus frangula*)  
C.I. 75440



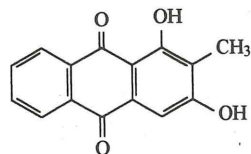
alizarina  
(de *Rubia tinctorium*)  
C.I. 75338



munjistina  
C.I. 75370



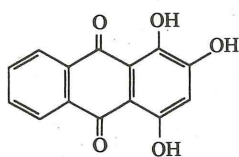
xantopurpurina  
(de *Rubia tinctorium*)  
C.I. 75340



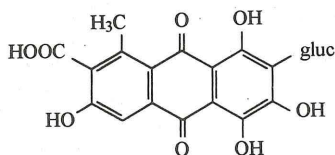
rubiadina  
C.I. 75350

Fig. 6.2 Otras quinonas con su Color Index

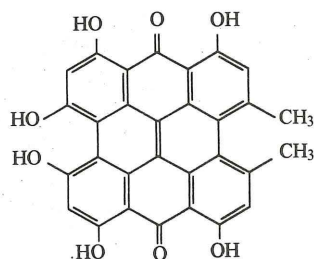
continúa Fig. 6.2



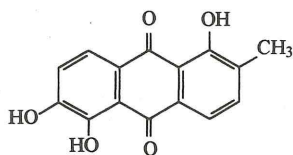
purpurina  
(de *Rubia tinctorium*)  
C.I. 75410



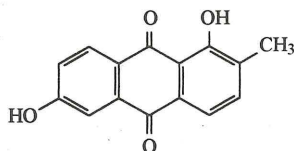
ac. carmínico  
(*Dactilopius coccus Costa*)  
C.I. 75470



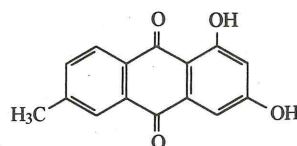
hipericina  
(de *Hypericum perforatum*)



morindona  
C.I. 75430



soranjidiol  
(de *Morinda umbellata*)  
C.I. 75390



morindanigrina  
C.I. 75360

das a partir de una cadena policetida de ocho unidades de acetato, la que se pliega, condensa y luego sufre reacciones de oxidación, metilación, descarboxilación<sup>1,2</sup>.

En otros casos, son formadas a través de la ruta del ácido shikimico, como se observa en la Figura 6.3, para la shikonina, juglona, lawsona, alizarina y filoquinona<sup>2</sup>.

## 6.4 EXTRACCION Y PURIFICACION <sup>1,3,9</sup>

Los métodos de extracción utilizados no son particulares para las quinonas; de acuerdo a su solubilidad y polaridad pueden ser extraídas en solventes diversos, generalmente se utiliza la extracción secuencial con solventes de polaridad creciente. Entre los solventes utilizados comúnmente están el cloroformo, metanol y etanol. Los extractos metanólico y etanólico, una vez removido el solvente, son sometidos a una partición con  $\text{CHCl}_3/\text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{AcOEt}/\text{H}_2\text{O}$  ó  $\text{AcOEt}/40\% \text{ MeOH}$  y luego se efectúan las separaciones cromatográficas de la fase orgánica.



Otro método usual es la extracción en medio alcalino aprovechando la presencia de grupos hidroxilos fenólicos; así, las naftoquinonas y antraquinonas  $\beta$ -hidroxiladas en el anillo bencénico son solubles en solución de bicarbonato de sodio, mientras que los isómeros  $\alpha$ —que están quelatados—, lo son en solución de hidróxido de sodio. Es interesante destacar que en exceso de solución alcalina las hidroxiquinonas producen diferente coloración, lo que constituye una información preliminar en la determinación estructural, como puede observarse en los ejemplos de la Tabla 6.1. Por otro lado, debe considerarse que si hubiera más de un grupo-OH, puede haber más de un cambio de coloración.

La separación cromatográfica por columna se hace utilizando gel de sílice y como sistemas de elución los solventes hexano, acetato de etilo, cloroformo, metanol, y mezclas de ellos de polaridad creciente.

La CCD, también en gel de sílice es un procedimiento para la separación de quinonas, aunque dada la variedad de estructuras no hay un sistema de solvente único; por lo general para las benzo- y naftoquinonas, que son liposolubles, puede utilizarse solventes puros tales como benceno, cloroformo, éter de petróleo, o sus mezclas; en el caso de antraquinonas o quinonas más hidroxiladas son usuales sistemas como AcOEt:MeOH:H<sub>2</sub>O (100:16,5:13,5); éter de petróleo:formiato de etilo:ácido fórmico (90:40:1).

La DCCC (droplet countercurrent chromatography) utiliza sistemas como C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>:EtOH:H<sub>2</sub>O:AcOEt (5:4:1:2), CHCl<sub>3</sub>:MeOH:H<sub>2</sub>O:n-buOH (9:12:8:1), EP:EtOH:H<sub>2</sub>O:AcOEt (5:4:1:2), entre otros, y el Sephadex LH-20 utiliza metanol o cloroformo:metanol 2:1 como solventes de elución.

Desde que las quinonas son coloreadas, ellas son detectadas a la luz visible; sin embargo, también pueden ser examinadas a la luz UV, o utilizar reactivos cromogénicos como el cloruro férrico para detectar hidroxilos fenólicos, el azul de leucometileno que produce en las benzo y naftoquinonas manchas azules sobre un fondo blanco, o KOH metanólico al 10% que producen cambios de color de las manchas originales, de amarillo a rojo, violeta, verde o púrpura; asimismo, puede utilizarse el ácido perclórico y el sulfato cérico amonio.

## 6.5 IDENTIFICACION <sup>3,4</sup>

Las mediciones espectrales son esenciales para la identificación de las quinonas. El espectro UV-V indica la clase de quinona presente, desde que el número y posición de las bandas de absorción aumenta con la complejidad de la estructura. Por otro lado, presentan en el espectro IR absorciones fuertes características del grupo carbonilo,

**Tabla 6.1.** Coloración de las hidroxiquinonas en solución alcalina y sus valores de  $\lambda_{\text{máx}}^3$

Hidroxiquinonas	Color	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm EtOH / OH <sup>-</sup>
<b>naftoquinonas</b>		
2-hidroxi-	naranja	459
5-hidroxi-	violeta	538
6-hidroxi-	violeta-rojizo	520
2,3-dihidroxi-	azul	650
2,5-dihidroxi-	violeta-rojizo	490
3,5-dihidroxi-	rojo	435
5,6-dihidroxi-	azul	571
5,7-dihidroxi-	violeta	542
5,8-dihidroxi-	azul	655
<b>antraquinonas</b>		
1-hidroxi-	rojo	500
2-hidroxi-	naranja-rojizo	478
1,2-dihidroxi-	violeta-azulado	576
1,3-dihidroxi-	rojo	485
1,4-dihidroxi-	violeta	560
1,5-dihidroxi-	rojo	496
1,8-dihidroxi-	rojo	513
1,2,3-trihidroxi-	verde	668
1,2,4-trihidroxi-	violeta-rojizo	544
1,4,5-trihidroxi-	violeta	561
1,4,5,8-tetrahidroxi-	azul	630

y en el espectro de masa es característico la pérdida de una o dos moléculas de monóxido de carbono a partir del pico padre. Mayores detalles se señalan en los párrafos siguientes.

El espectro UV de la p-benzoquinona se caracteriza por una absorción intensa alrededor de 240 nm ( $\epsilon_{\text{máx}}$  26000), una de intensidad media a 285 nm ( $\epsilon_{\text{máx}}$  300) y una aún mucho más débil ( $n \rightarrow \pi$ ) en la región visible. La introducción de un grupo sustituyente produce un pequeño desplazamiento batocrómico en la primera banda

( $\sim 10$  nm), en la segunda banda el desplazamiento es mayor y dependiente del sustituyente (Me 27 nm, MeO 69 nm, OH 81 nm); la introducción de un segundo sustituyente no produce desplazamiento significativo.

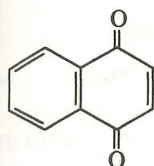
En las naftoquinonas el espectro es más complejo desde que hay absorciones a 245, 257h y 335 nm ( $\log \epsilon$  4,34, 4,12 y 3,48, respectivamente). El hombro a 257 nm corresponde a las transiciones electrónicas en el sistema quinoideo, por lo que hay desplazamiento batocrómico si se introduce sustituyentes +I y +M (ejemplo 2-hidroxi: 275-280 nm); por otro lado, la "peri" sustitución por grupo hidroxilo produce en la banda del bencenoide (335 nm) un desplazamiento de alrededor de 100 nm (ejemplo 5-hidroxi: 420 nm, 5,8-dihidroxi: 490 nm).

Las antraquinonas muestran intensa absorción bencenoide a 250 nm y de intensidad media a 322 nm; la absorción quinoidea fuerte se observa a 263 y 272 nm y una débil a 405 nm. La sustitución por grupos hidroxilo o alcoxilo intensifica las bandas y provoca desplazamientos batocrómicos.

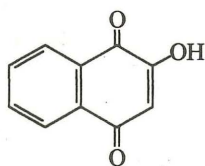
Algunos ejemplos se observan en la Figura 6.4. En la Figura 6.5<sup>4</sup> se muestran otros ejemplos indicando su ocurrencia natural y otras características; obsérvese la diversidad de fuentes naturales, plantas superiores, hongos, líquenes, bacterias, insectos, organismos marinos, etc.

En el IR la absorción del grupo carbonilo se observa a  $\sim 1669$   $\text{cm}^{-1}$  para la p-benzoquinona; la frecuencia aumenta con el número de anillos bencénicos fusionados lineales, así para la 1,4-naftoquinona aparece a  $\sim 1675$   $\text{cm}^{-1}$  y para la 9,10-antraquinona a  $\sim 1678$   $\text{cm}^{-1}$ ; y disminuye por la presencia de enlaces de hidrógeno, apareciendo a  $1640$   $\text{cm}^{-1}$  si el carbonilo está quelatado y a  $1660$   $\text{cm}^{-1}$ , si no lo está.

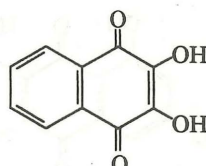
En el RMN se observa valores característicos para el protón del sistema quinónico ( $\sim 6,5$ - $7,0$  ppm) y para el carbono carbonílico ( $\sim 170,0$ - $190,0$  ppm), como podemos apreciar en la Figura 6.6.



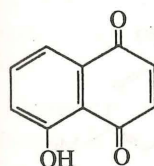
naftoquinona  
245, 257h, 335  
(4,34, 4,12, 3,48)



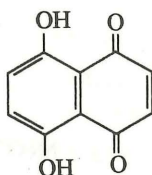
2-hidroxinaftoquinona  
(lawsona)  
249, 275,5, 282, 339  
(4,20, 4,23, 4,24, 3,53)



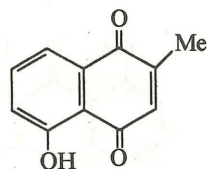
2,3-dihidroxinaftoquinona  
240, 280, 418, 430  
(4,00, 4,10, 3,56, 3,56)



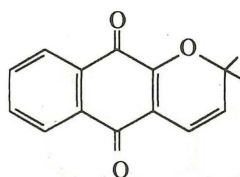
juglona  
253,5, 337, 429  
(4,19, 3,15, 3,64)



5,8-dihidroxinaftoquinona  
369, 338, 490, 524  
(3,87, 3,00, 3,73, 3,78)



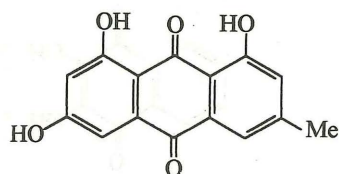
plumbagina  
220, 266, 118  
(3,87, 4,12, 3,61)



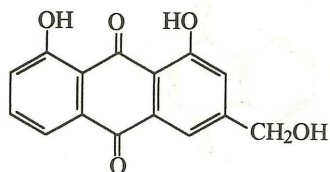
dehidro- $\alpha$ -lapachona  
267, 276h, 333, 436  
(4,35, 4,17, 3,40, 3,21)

Fig. 6.4 Propiedades espectrales UV-V de algunas quinonas de ocurrencia natural,  $\lambda_{\text{m\acute{a}x.}}$ , nm (log  $\epsilon$ )

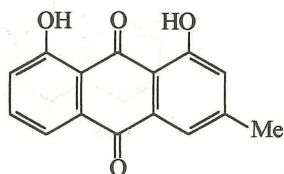
continúa Fig. 6.4



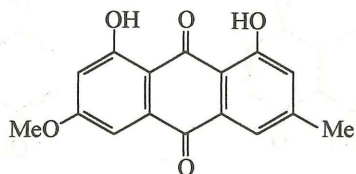
emodina  
253, 266, 289, 436  
(4,31, 4,29, 4,36, 4,14)



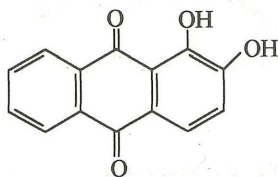
aloe emodina  
225, 254, 276,5, 287, 430, 457h  
(4,59, 4,34, 4,01, 4,03, 4,04, 3,89)



crisofanol  
228, 257, 277, 287, 429  
(4,30, 4,01, 4,03, 4,03)



fisci3n  
253h, 266, 288, 431  
(4,35, 4,36, 4,30, 4,20)



alizarina  
247, 278, 330, 434  
(4,45, 4,13, 3,46, 3,70)

6-metildehidro- $\alpha$ -lapachona

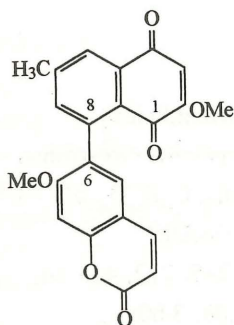
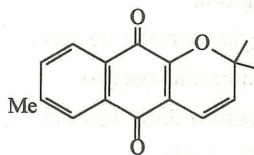
hongo *Fomes annosus*

agujas naranja,  $C_{16}H_{14}O_3$ , pf 130-132°C

UV-V (MeOH) 265, 275h, 333, 444 nm

(log  $\epsilon$  4,30, 4,26, 3,76, 3,14)

IR (KBr) 1668, 1648  $cm^{-1}$



naftoherniarina

*Ruta graveolens* (raíz)

agujas naranja,  $C_{22}H_{16}O_6$ , pf 283-285°C

UV (MeOH) 225, 248, 255, 277, 332, 350 nm

(log  $\epsilon$  4,34, 4,28, 4,32, 4,29, 4,19, 4,14)

IR (KBr) 1728, 1677, 1644  $cm^{-1}$

3,3'-bijuglona

*Juglans regia* (corteza de raíz)

cristales naranja,  $C_{20}H_{16}O_6$ , pf 270°C (d)

UV-V (dioxano) 272, 425 nm

(log  $\epsilon$  4,06, 3,66)

IR (KBr) 1660, 1625  $cm^{-1}$

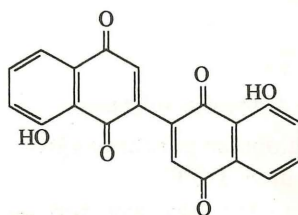


Fig. 6.5 Ocurrencia natural, punto de fusión y propiedades espectrales (UV-V, IR) de quinonas diversas<sup>4</sup>

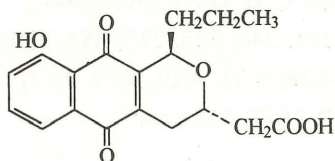
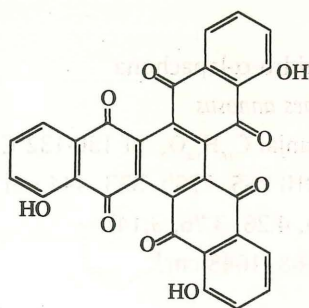
continúa Fig. 6.5

## ciclotrijuglona

*Juglans regia* (corteza de raíz)

cristales amarillo oscuro

UV-V (dioxano) 280, 420 nm

(log  $\epsilon$  4,48, 4,04)IR (KBr) 1660, 1630  $\text{cm}^{-1}$ 

## (1R, 3R)-deoxifrenolicina

cultivo de *Streptomyces roseofulvus*cristales naranja,  $\text{C}_{18}\text{H}_{18}\text{O}_6$ , pf 173-175°C[ $\alpha$ ]<sub>D</sub> + 118,4° (MeOH)

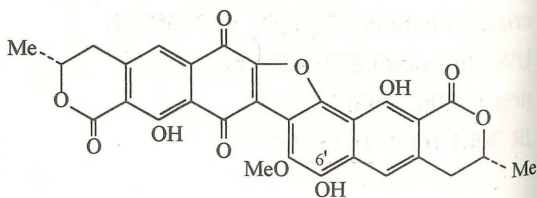
UV-V (MeOH) 245, 272, 418 nm

(log  $\epsilon$  4,01, 4,08, 3,60)IR (KBr) 1715, 1665, 1630  $\text{cm}^{-1}$ 

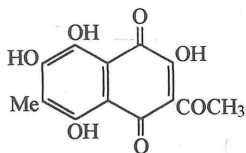
## viopurpurina

cultivo de *Aspergillus sulphureus*

cristales globular púrpura-negro,

 $\text{C}_{29}\text{H}_{20}\text{O}_{11}$ , pf > 310°CUV-V ( $\text{CHCl}_3$ ) 274, 282, 377, 500 nm(log  $\epsilon$  4,57, 4,59, 3,95, 3,48)IR ( $\text{CHCl}_3$ ) 1725, 1678, 1640  $\text{cm}^{-1}$ 

continúa Fig. 6.5

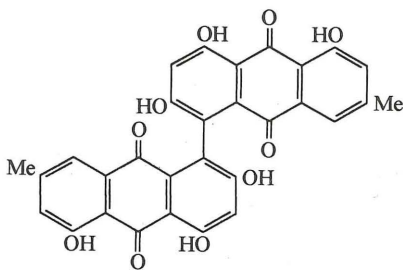
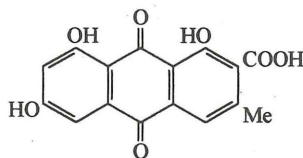


3-acetil-2,7-dihidroxi-6-metilnaftazarina  
*Strongylocentrotus nudus* (erizo de mar)  
 agujas rojas,  $C_{13}H_{10}O_7$ , pf 179-181°C  
 UV-V ( $CHCl_3$ ) 261, 324, 506h, 535, 568h nm  
 (log  $\epsilon$  4,24, 4,02, 3,71, 3,47, 3,66)

endocrocina

$C_{16}H_{10}O_7$

en hongos superiores *Cortinarius armillatus* y *C. pseudocolus*, *Dermocybe cimamomeolutes* y *D. cinnabarina*; cultivos de *Penicillium tardum*, *Aspergillus aculeatus*, *Eurotium echinulatum* y *Pyrenochaeta terrestris*; en líquenes *Cetraria cucullata*, *C. ornata* y *Ocellularia domingensis*



(+)-skyrin(5,5'-biemodina)

$C_{30}H_{18}O_{10}$

en hongos parásitos *Hypomyces lactifluorum* y *H. trichothecoides*; "cuerpo fructífero" *Cortinarius atrovirens*, *C. odoratus* y *C. ionochlorus* y *Dermocybe sp.*; en líquenes *Acroschyphus sphaerophoroides*, *Cladonia graciliformis*, *Pyxine endochrysin*, *Trypetheliopsis boninensis*; en insecto *Pseudicoccus albizziae*.

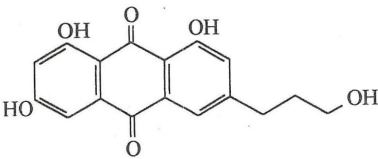
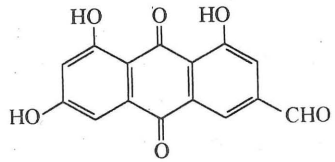
continúa Fig. 6.5

emodin-aldehído

$C_{15}H_8O_6$ , pf 272-274°C

en numerosos líquenes de los géneros *Caloplaca*, *Xanthoria* y *Fulgensia*

UV-V (MeOH) 248, 267, 287, 434 nm



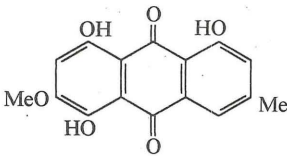
ω-rodoptilometrina

$C_{17}H_{14}O_6$ , pf 229-230°C

*Echinaster echinoporus* (estrella de mar)

UV-V (MeOH) 252, 267, 291, 437, 455 nm

(log ε 4,17, 4,14, 4,17, 3,94, 3,89)



xantorin 5-metil éter

raíz de *Cassia occidentalis*; semillas de *C. torosa* y cultivo de tejido de *C. obtusifolia*; corteza de *Ventilago calyculata* y *V. maderaspatana*; en numerosos líquenes *Caloplaca* y *Xanthoria* y *Teloschistes flavicans* y *T. chrysophthalmus*

agujas naranja,  $C_{17}H_{14}O_6$ , pf 252°C

UV-V (MeOH) 230, 257, 295, 440 nm

(log ε 4,48, 4,32, 4,01, 4,02)

IR (CHCl<sub>3</sub>) 1685, 1635 cm<sup>-1</sup>

biruloquinona

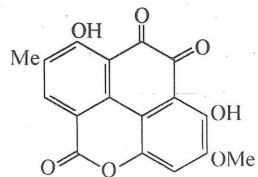
en líquen *Parmelia birulae*

cristales violeta,  $C_{17}H_{10}O_7$ , pf 307-308°C

UV-V (CHCl<sub>3</sub>) 290, 307, 320, 440, 568 nm

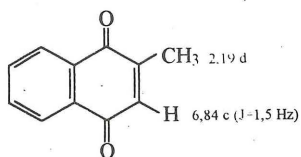
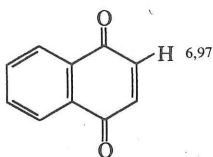
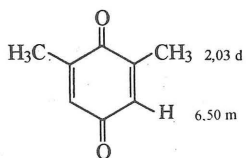
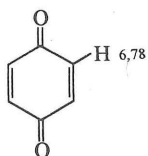
(log ε 4,03, 4,17, 4,12, 3,33, 3,42)

IR (CHCl<sub>3</sub>) 1728, 1628, 1600 cm<sup>-1</sup>



En la Figura 6.7 se observan los espectros UV, IR y RMN-<sup>1</sup>H del lapachol<sup>10</sup> y en las Tablas 6.2 a 6.10<sup>11-19</sup> se presentan valores espectroscópicos y otros datos de quinonas reportados en la literatura.

RMN-<sup>1</sup>H



RMN-<sup>13</sup>C

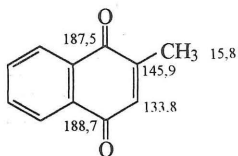
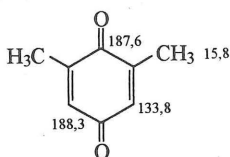
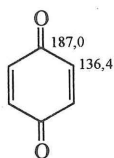


Fig. 6.6 Algunas quinonas con sus valores RMN

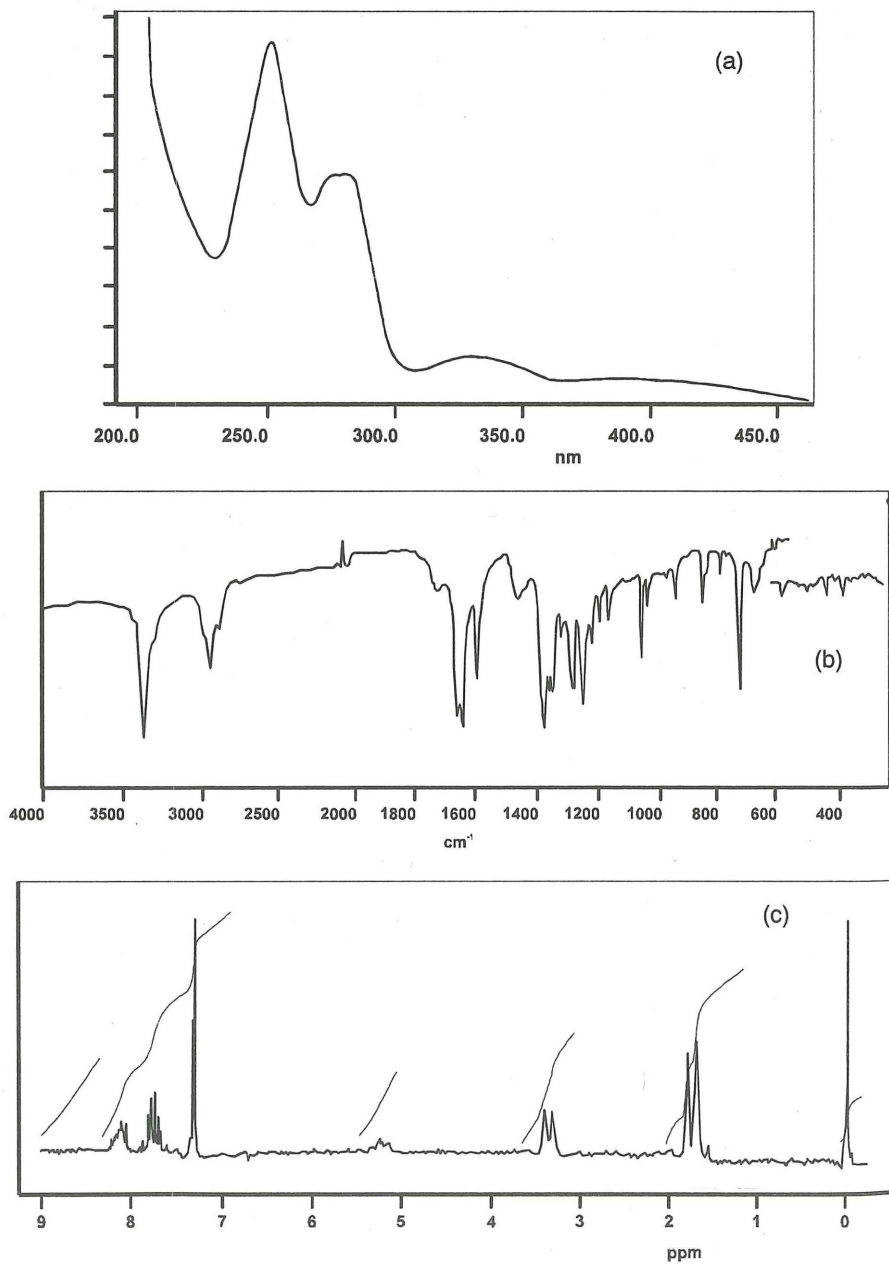
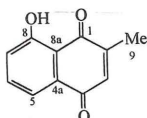


Fig. 6.7 Espectros ultravioleta (a), infrarrojo (b), y de resonancia magnética nuclear de protón (c) del lapachol<sup>10</sup>

Tabla 6.2. Valores espectroscópicos para la naftoquinona isoplumbagina<sup>11</sup>



isoplumbagina C<sub>11</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>  
*Lawsonia inermis*, corteza  
 agujas de color naranja, pf 67-68°C

UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$  nm, 265, 411

IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>, 3415 (OH), 1662 (C=O), 1642 (C=O quelatado), 1610 (C=C), 890, 832, 710, 645 (núcleo aromático)

RMN-<sup>1</sup>H,  $\delta$ ppm

O-H	11,95 (1H, s.a., intercambia con D <sub>2</sub> O)
H-7	7,61 (1H, dd, J=2,20, 8,30 Hz)
H-5	7,50 (1H, dd, J=2,20, 8,07 Hz)
H-6	7,24 (1H, dd, J=8,07, 8,30 Hz)
H-3	6,80 (1H, s)
Me-9	2,18 (3H, d, J=13,85 Hz)

RMN-<sup>13</sup>C,  $\delta$ ppm

C-1	190,2
C-2	135,5
C-3	149,5
C-4	184,7
C-4a	115,1
C-5	124,0
C-6	136,0
C-7	119,3
C-8	160,9
C-8a	132,0
Me-9	16,5

Reacciones de color:

con FeCl<sub>3</sub> ligero color púrpura, debido a la presencia de grupo fenólico;

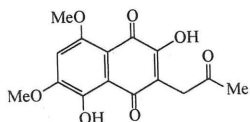
con NaOH aq. color rojo violeta, debido a su naturaleza hidroxinaftoquinona

Cromatografía de capa delgada, en sílicagel:

EP:EtOAc:HCO<sub>2</sub>H (75:25:1) R<sub>f</sub> 0,90

EP:Bz (25:37,5) R<sub>f</sub> 0,32

Detección con vapores de yodo, ácido perclórico, sulfato cerico amónico y lámpara UV.

**Tabla 6.3.** Valores espectroscópicos para la naftoquinona 1,4-naftalendiona-3,8-dihidroxi-5,7-dimetoxi-2-(2-oxopropil)<sup>12</sup>

UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ), 211 (4,3)  
 270 (4,2), 300 (4,2), 454  
 (4,0)

1,4-naftalendiona-3,8-dihidroxi-  
 5,7-dimetoxi-2-(2-oxopropil), C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>O<sub>7</sub>  
 cristales rojo-naranja, pf. 226-229°C (MeOH)

IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$ , cm<sup>-1</sup>, 3200, 1705, 1635,  
 1610, 1570 h, 1470,  
 1435, 1415, 1385, 1325,  
 1310 h, 1275, 1215,  
 1165, 1090, 1050, 1030,  
 1015, 975, 920, 825

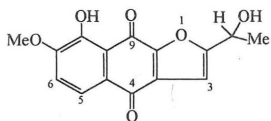
RMN-<sup>1</sup>H (270 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

OH-8	13,6 (1H, s, intercambia con D <sub>2</sub> O)
OH-3	8,21 (1H, s.a., intercambia con D <sub>2</sub> O)
H-6	6,62 (1H, s)
MeO-7 y	4,0 (6H, s)
MeO-5	

	3,68 (2H,s)
--	-------------

	2,28 (3H,s)
--	-------------

**Tabla 6.4.** Valores espectroscópicos para la furano-naftoquinona (+)-8-hidroxi-2-(1'-hidroxietil)-7-metoxinafto [2,3-b] furan-4,9-quinona<sup>13</sup>



UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH } 90\%}$  nm (log  $\epsilon$ ) 245  
(4,66), 294 (4,33), 325  
(4,19)

(+)-8-hidroxi-2-(1'-hidroxietil)-  
7-metoxinafto [2,3-b]

furan-4,9-quinona, C<sub>15</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

*Tabebuia incana* A. Gentry, madera

cristales naranja, pf 152-154°C (MeOH:CHCl<sub>3</sub>)

IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$  cm<sup>-1</sup>, 3450 (OH), 1660 y  
1640 (C=O), 1595, 1520,  
1470, 1430, 1380, 1350,  
1270, 1230, 1190, 1025,  
970, 760

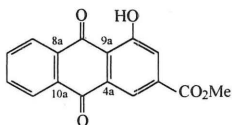
$[\alpha]_{\text{D}}^{20}$  +11 (CHCl<sub>3</sub>, c 0,1)

RMN-<sup>1</sup>H, (80 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

OH-8	12,47 (1H, s, intercambia con D <sub>2</sub> O)
H-5	7,71 (1H, d, J=8,5 Hz)
H-6	7,05 (1H, d, J=8,5 Hz)
H-3	6,83 (1H, s)
CH-OH	4,99 (1H, q, J=6,5 Hz)
OMe	3,99 (3H, s)
Me	1,64 (3H, d, J=6,5 Hz)

Cromatografía de capa delgada, sílicagel-60

Detección con sulfato cérico al 2% en H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> al 50%, vapores de yodo y lámpara UV

**Tabla 6.5.** Valores espectroscópicos para la antraquinona 3-carbometoxi-1-hidroxi-9,10-antraquinona<sup>14</sup>

3-carbometoxi-1-hidroxi-9,10-antraquinona, C<sub>16</sub>H<sub>10</sub>O<sub>5</sub>  
*Rubia oncotricha* Hand-Mazz, raíz  
 polvo amarillo, pf 171-172°C (CHCl<sub>3</sub>)

UV  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{MeOH}}$  nm ( $\epsilon$ ) 208(23 628),  
 225(19 780), 228(19 945),  
 256(24 615), 278(10 604),  
 380(4 670), 400(5 165)

IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{CCl}_4}$  cm<sup>-1</sup>, 1720, 1680 y 1648  
 (C=O), 1600 (C=C)

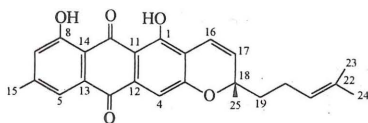
RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

OH-1	12,53 (1H, s)
H-4	8,44 (1H, d, J=1,6 Hz)
H-5, H-8	8,35 (2H, m)
H-2	7,96 (1H, d, J=1,6 Hz)
H-6, H-7	7,85 (2H, m)
OMe	4,00 (3H, s)

RMN-<sup>13</sup>C (100,6 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

C-1	162,42
C-2	125,14
C-3	137,48
C-4	119,93
C-5	127,70
C-6	135,12
C-7	134,46
C-8	127,15
C-9	188,63
C-10	181,69
C-9a	118,49
C-4a	133,11
C-10a	133,66
C-8a	133,78
3-CO <sub>2</sub> Me	165,08
3-CO <sub>2</sub> Me	52,88

Tabla 6.6. Valores espectroscópicos para la geraniltraquinona ploriariquinona<sup>15</sup>



UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{CHCl}_3}$  nm, (log  $\epsilon$ ) 234 (3,67),  
263 (4,39), 276 (4,17),  
302 (4,57), 347 (3,42),  
444 (4,20)

ploriariquinona, C<sub>22</sub>H<sub>24</sub>O<sub>5</sub>

*Ploiarum alternifolium* Melch

crisales naranja, pf 144-146°C (Me<sub>2</sub>CO)

$[\alpha]_D +16,4$  (CHCl<sub>3</sub>, c 0,9)

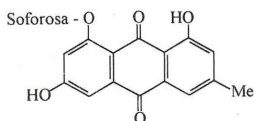
IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{CCl}_4}$  cm<sup>-1</sup>, 3300 (OH, a.), 1670  
(C=O), 1620 (C=O  
quelatado), 1600 (C=C)

RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

OH-1	12,50	(1H, s)
OH-8	12,04	(1H, s)
H-5	7,46	(1H, m)
H-4	7,12	(1H, d, J=0,7 Hz)
H-7	7,04	(1H, m)
Me-15	2,39	(3H, s.a.)
H-21	5,07	(1H, t.a., J=7,11 Hz)
H-17	5,67	(1H, d, J=10,2 Hz)
H-16	6,75	(1H, dd, J=0,7 y 10,2 Hz)
Me-23	1,56	(3H, s)
Me-24	1,64	(3H, s)
Me-25	1,46	(3H, s)
CH <sub>2</sub> -20	2,03	(2H, m)
CH <sub>2</sub> -19	1,71	(2H, m)

RMN-<sup>13</sup>C (50 MHz, CDCl<sub>3</sub>),  $\delta$ ppm

C-1	160,2	C-14	113,5
C-2	114,0	C-15	22,0
C-3	159,3	C-16	129,7
C-4	109,5	C-17	115,8
C-5	120,9	C-18	80,9
C-6	148,1	C-19	41,8
C-7	124,1	C-20	22,6
C-8	162,3	C-21	123,5
C-9	190,6	C-22	129,7
C-10	181,0	C-23	17,6
C-11	109,9	C-24	25,6
C-12	133,9	C-25	27,2
C-13	133,1		

**Tabla 6.7.** Valores espectroscópicos para la antraquinona glicosidada emodin-8-O-soforósido<sup>16</sup>

UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{DMSO}}$ , nm, (log  $\epsilon$ ) 421 (3,79),  
340 (4,09), 285 (4,42)

emodin-8-O-soforósido

*Cassia angustifolia*, hojas

polvo amorfo, M+ 594,  $[\alpha]_{\text{D}} -65,0$  (MeOH, c 0,1)

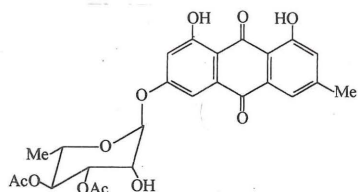
RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ ppm

OH-1	13,72	(1H, s.a.)
H-4	7,42	(1H, s.a.)
H-5	7,13	(1H, s.a.)
H-2	7,10	(1H, s.a.)
H-7	6,71	(1H, s.a.)
H-1' glc	5,25	(1H, d, J=7,3 Hz)
H-1'' glc	4,68	(1H, d, J=7,3 Hz)
Me-3	2,39	(3H, s)

RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>),  $\delta$ ppm

C-1	161,9	C-1'	98,1
C-2	116,2	C-1''	104,3
C-3	146,1	C-2'	82,6
C-4	124,1	C-2'',3'	75,1
C-5	107,4	C-3''	75,8
C-6	168,4	C-4',4''	68,8,
C-7	110,0		69,0
C-8	160,4	C-5',5''	76,4,
C-9	185,2		76,5
C-10	180,9	C-6',6''	59,5,
C-10a	132,1		60,3
C-8a	110,3		
C-9a	114,6		
C-4a	136,3		
Me-3	21,3		

Soforosa:  $\beta$ -D-glucopiranosil-(1->2)- $\beta$ -D-glucopiranosil

**Tabla 6.8.** Valores espectroscópicos para la antraquinona glicosidada emodina ramnopiranosido<sup>17</sup>UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$  nm, 266, 295, 435IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ , 3450, 2923, 1746,  
1678, 1629, 1257, 1214emodina ramnopiranosido,  $\text{C}_{25}\text{H}_{24}\text{O}_{11}$ *Rhamnus prinoides* L'Herit, frutos

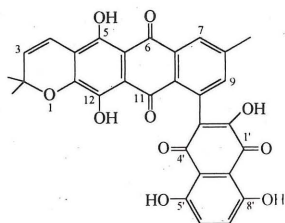
naranja-rojizo, pf 230-232°C

 $[\alpha]_{\text{D}}^{21}$  -84 ( $\text{CHCl}_3$ , c 0,14)RMN-<sup>1</sup>H (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ ppmRMN-<sup>13</sup>C (22,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ ppm

OH-1,8	12,25, 12,03	C-1	162,8	C-1'	97,4
H-4	7,62	C-2	121,3	C-2'	71,3
H-5	7,50	C-3	148,8	C-3'	70,9
H-2	7,08	C-4	124,5	C-4'	69,1
H-7	6,93	C-5	109,5	C-5'	67,9
<u>Me</u> -Ar	2,44 (s)	C-6	162,0	C-6'	17,4
H-1'	5,60 (d, 1,7)	C-7	111,6	<u>Me</u> -Ar	22,1
H-3'	5,40 (dd, 3,10)	C-8	165,0	<u>CO</u> -Me	169,9 169,8
H-4'	5,19 (dd, 10,9)	C-9	191,0	<u>CO</u> - <u>Me</u>	20,6 20,8
H-2'	4,28 (s.a.)	C-10	181,4		
H-5'	3,89 (m)	C-5a	135,5		
H-6'	1,19 (d, 6)	C-8a	113,7		
OAc	2,04, 2,14	C-1a	109,3		
		C-4a	133,1		

CCD, sílicagel 60<sup>254</sup> $\text{CHCl}_3$ :EtOAc (4:1, +5 gotas 5% HCl en MeOH)

detección: 3% KOH etanólico

**Tabla 6.9.** Valores espectroscópicos para la antraquinonaftoquinona tectograndona<sup>18</sup>

UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{CHCl}_3}$  nm (log  $\epsilon$ ) 250 (4,78),  
278 (4,81), 478 (4,59),  
490 (4,60)

IR  $\nu_{\text{máx}}^{\text{KBr}}$   $\text{cm}^{-1}$ , 3500 a., 1620

tectograndona,  $\text{C}_{30}\text{H}_{20}\text{O}_{10}$

*Tectona grandis* L., hojas

polvo naranja, pf 277°C (d) ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :hexano)

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$   
1:1),  $\delta$ ppm

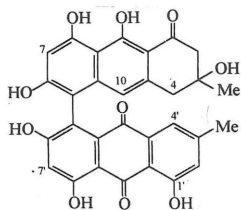
OH-5	13,74
OH-12	12,92
OH-8'	12,73
OH-5'	11,89
H-7	8,16 (d, J=1,4 Hz)
H-9	7,43 (d, J=1,4 Hz)
H-7'	7,26 (d, J=9,6 Hz)
H-6'	7,19 (d, J=9,6 Hz)
H-4	6,66 (d, J=10,0 Hz)
H-3	5,80 (d, J=10,0 Hz)
Me-8	2,54
Me-2	1,47
Me-2	1,46

RMN-<sup>13</sup>C (100 MHz,  $\text{CDCl}_3/\text{DMSO-d}_6$   
1:1),  $\delta$ ppm\*

C-2	77,8	C-1'	185,7 <sup>c</sup>
Me-2	26,9	C-2'	133,3 <sup>b</sup>
Me-2	26,9	C-3'	123,8
C-3	130,6	C-4'	186,0 <sup>c</sup>
C-4	113,7	C-4a'	110,1 <sup>d</sup>
C-4a	115,0	C-5'	155,9 <sup>e</sup>
C-5	154,1	C-6'	125,9 <sup>f</sup>
C-5a	104,7	C-7'	129,4 <sup>f</sup>
C-6	183,0	C-8'	155,0 <sup>e</sup>
C-6a	124,2	C-8a'	109,8 <sup>d</sup>
C-7	126,3		
C-8	143,6		
Me-8	20,4		
C-9	137,2		
C-10	132,0 <sup>b</sup>		
C-10a	128,3		
C-11	183,4 <sup>c</sup>		
C-11a	111,4		
C-12	147,5		
C-12a	148,9		

\* las letras superescritas indica que las señales pueden estar intercambiadas

**Tabla 6.10.** Valores espectroscópicos para la antraquinona ictarinoidin B<sup>19</sup>



UV-V  $\lambda_{\text{máx}}^{\text{EtOH}}$  nm (log  $\epsilon$ ) 222 (4,31),  
280 (4,24), 425 (3,95)

IR  $\nu_{\text{máx}}$ ,  $\text{cm}^{-1}$ , 3418, 1628, 1599

ictarinoidin B,  $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{O}_{10}$

*Dermocybe icterinoides* (hongo)

cristales globulares de color amarillo-marrón, pf > 340°C

$[\alpha]_{\text{D}}^{13} +548$  ( $\text{CHCl}_3$ , c 0,35)

RMN-<sup>1</sup>H (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ ppm

RMN-<sup>13</sup>C (100,4 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ ppm

H-2ax	2,75	(1H, d, J=18 Hz)	C-1	202,1	C-1'	162,1
H-2eq	2,82	(1H, d.a., J=18 Hz)	C-2	50,7	C-2'	124,1
Me-3	1,38	(s)	C-3	71,7	C-3'	148,8
OH-3	3,49	(s)	Me-3	29,3	Me-3'	22,1
H <sub>2</sub> -4	2,85/ 2,90	(ABq, J=16 Hz)	C-4	43,2	C-4'	121,4
OH-6	5,99	(s)	C-4a	136,9	C-4a'	133,4
H-7	6,58	(s)	C-5	104,0	C-5'	115,1
OH-8	10,16	(s)	C-6	158,3	C-6'	165,8
OH-9	16,11	(s)	C-7	101,8	C-7'	109,1
H-10	6,28	(s)	C-8	161,1	C-8'	162,5
OH-1'	11,97	(s)	C-8a	108,5	C-8a'	111,9
H-2'	7,03	(s.a.)	C-9	166,2	C-9'	191,2
Me-3'	2,32	(s)	C-9a	108,8	C-9a'	113,2
H-4'	7,33	(s.a.)	C-10	113,7	C-10'	182,3
OH-6'	5,50	(s)	C-10a	139,2	C-10a'	133,8
H-7'	6,92	(s)				
OH-8'	12,89	(s)				

## REFERENCIAS

1. Harborne, J.B. (1973) *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London.
2. Luckner, M. (1990) *Secondary Metabolism in Microorganism, Plants and Animals*. Springer-Verlag, Berlin.
3. Thomson, R.H. (1971) *Naturally Occurring Quinones*. Academic Press, London.
4. Thomson, R.H. (1987) *Naturally Occurring Quinones III. Recent Advances*. Chapman and Hall, London.
5. Oliveira, A.B., Raslan, D.S., Miraglia, M., Mesquita, A., Zani, C., Ferreira, D., Maia, J. (1990) Estructura Química y Actividad Biológica de Naftoquinonas de Bignoniaceas Brasileiras. *Química Nova* 13, 302-307, y todas las referencias allí incluidas.
6. Grazziotin, J.D., Schapoval, E.S., Chaves, C.G., Gleye, J., Henriques, A.T. (1992) Phytochemical and Analgesic Investigation of *Tabebuia chrysantha*. *J. of Ethnopharmacology*, 36, 249-251.
7. Hendry, G.A., Houghton, J.D., eds. (1992) *Natural Food Colorants*. Blackie, Glasgow.
8. Gill, M. (1994) Pigments of Fungi (Macromycetes). *Nat. Prod. Report*. 11, 67-90.
9. Hostettmann, K., Hostettmann, M., Marston, A. (1986) *Preparative Chromatography Techniques. Applications in Natural Products Isolation*. Springer-Verlag, Berlin.
10. Pacheco, M., Lock de Ugaz, O. (1994) Metabolitos Secundarios de *Tabebuia serratifolia*. *Revista de Química*, PUCP, 8, 5-12
11. Gupta, S., Ali, M., Alam, M.S. (1993) A Naphthoquinone from *Lawsonia inermis* Stem Bark. *Phytochem.* 33, 723-724.
12. Tatum, J.H., Baker, R.A., Berry, R.E. (1985) Naphtoquinones produced by *Fusarium oxysporium* isolated from Citrus. *Phytochem.* 24, 457-459.
13. Oliveira, A.B., Raslan, G.S., Oliveira, G.G., Maia, J. (1993) Lignans and Naphtoquinones from *Tabebuia incana*. *Phytochem.* 34, 1409-1412.
14. Itokawa, H., Qiao, Y., Takeya, K. (1991) Anthraquinones, Naphtoquinones and Naphto-hydroquinones from *Rubia oncotricha*. *Phytochem.* 30, 637-640.
15. Bennett, G., Harrison, L., Mei-Shein Lim, Keng-Yeou Sim, Eng-Chai Tan, Connolly, J. (1991) Geranyl Anthraquinones from the Bark of *Ploiarium alternifolium*. *Phytochem.* 30, 3141-3143.
16. Kinjo, J., Ikeda, T., Watanabe, K., Nohara, T. (1994) An Anthraquinone Glycoside from *Cassia angustifolia* Leaves. *Phytochem.* 37, 1685-1687.
17. Abegaz, B., Peter, M. (1995) Emodin and Emodinanthrone Rhamnoside Acetates from Fruits

of *Rhamnus prinoides*. *Phytochem.* **39**, 1411-1414.

18. Aguinaldo, A., Ocampo, O.P., Bowden, B., Gray, A., Waterman, P. (1993) Tectograndone, an Anthraquinone-Naphtoquinone Pigment from the Leaves of *Tectona grandis*. *Phytochem.* **33**, 933-935.
19. Antonowitz, A., Gill, M., Morgan, P., Jin Yu, J. (1994) Coupled Anthraquinones from the Toadstool *Dermocybe icterinoides*. *Phytochem.* **37**, 1679-1683.



## Capítulo VII

### MISCELANEOS

#### 7.1 XANTONAS

##### *Introducción*

La literatura reporta varias revisiones de las xantonas; entre ellas podemos citar, las de Roberts (1961)<sup>1</sup>, Carpenter, Locksley y Scheinmann (1969)<sup>2</sup>, De Mata Rezende y Gottlieb (1973)<sup>3</sup>, Hostettmann y Wagner (1977)<sup>4</sup>, Sultanbawa (1980)<sup>5</sup>, Bennett y Hiok-Huang Lee (1989)<sup>6</sup>, Hostettmann y Hostettmann (1994)<sup>7</sup>, Pérez y Nagem (1997)<sup>8</sup>.

Las xantonas son pigmentos fenólicos amarillos, estructuralmente están relacionadas a los flavonoides, presentando similar comportamiento en sus reacciones de coloración y en su movilidad cromatográfica.

Mientras la ocurrencia natural de los flavonoides es muy alta, las xantonas se encuentran en un número limitado de familias, principalmente en las Gentianaceae y Guttiferae, y menos frecuentemente en las Polygalaceae, Leguminosae, Lythraceae, Moraceae, Loganiaceae y Rhamnaceae. Como agliconas y sus correspondientes O-glicósidos se encuentran únicamente en las familias Gentianaceae y Polygalaceae; en contraste, las C-glicosidas como la mangiferina y compuestos relacionados están ampliamente distribuidas en las Angiospermas (se les ha detectado en 28 géneros de 19 familias botánicas). Las xantonas también han sido encontradas en helechos, hongos y líquenes.

Debemos mencionar que la mayoría de los estudios han sido efectuados en las familias Guttiferae y Gentianaceae habiéndose observado que las xantonas de la Guttiferae son mucho más complejas que las xantonas de la Gentianaceae.

El interés creciente en estos compuestos es explicado por su actividad farmacológica (inhibidoras de la monoamina oxidasa, MAO, actividad antipsicótica, efecto tuberculostático, entre otros), además de su importancia quimiotaxonómica.

### Estructura

La naturaleza simétrica del núcleo de las xantonas así como su origen biosintético mixto en las plantas superiores hace que los carbonos sean numerados de acuerdo a una convención biosintética; los carbonos 1 a 4 se asignan al anillo A originado por la ruta del acetato y a menudo caracterizado por una 1,3-dioxigenación, mientras que los carbonos 5 a 8 se asignan al anillo B, originado por la ruta del shikimato (Fig. 7.1).



Fig. 7.1 Núcleo básico de una xantona

Las xantonas aisladas a la fecha pueden ser clasificadas en cinco grupos mayores: xantonas simples oxigenadas, xantonas glicosidadas, xantonas preniladas y relacionadas, xantonas lignoides y misceláneos. A su vez las xantonas simples oxigenadas se subdividen de acuerdo a su grado de oxigenación en mono-, di-, tri-, tetra- y penta oxigenados.

Algunos ejemplos se dan en la Figura 7.2<sup>9-13</sup>.

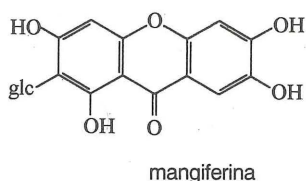
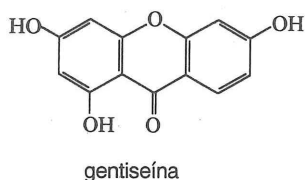
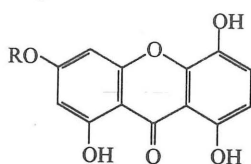


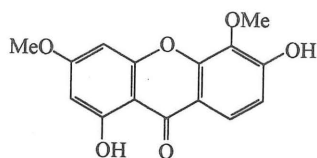
Fig. 7.2 Algunas xantonas

Nota.- Por razones de conveniencia, la numeración utilizada es arbitraria y no está de acuerdo a las reglas IUPAC

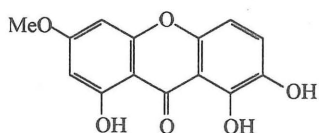
continúa Fig. 7.2



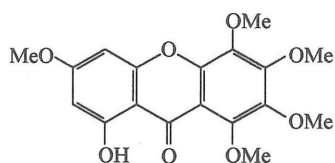
R=CH<sub>3</sub>, bellidifolina  
R=H, desmetilbellidifolina



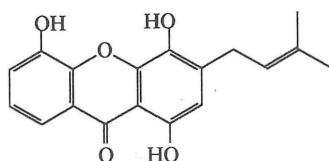
1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxixantona



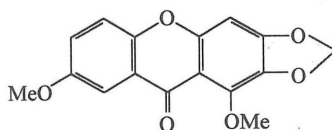
swertianina



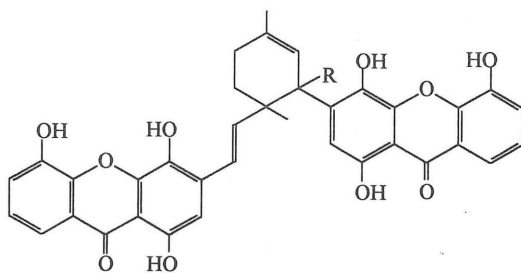
1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxixantona



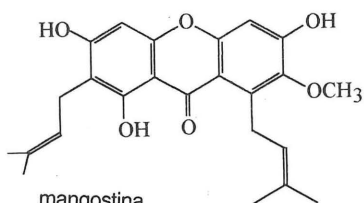
1,4,5-trihidroxi-3-(3-metilbut-2-enil)-xantona



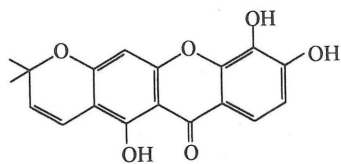
1,7-dimetoxi-2,3-metilendioxixantona



R= -H, garcilivina A  
R= <sup>13</sup>C, garcilivina B



mangostina



jacareubina

## Biosíntesis

El modelo de oxigenación de todas las xantonas en plantas superiores sugiere que éstas están formadas a partir de una ruta mixta shikimato-acetato. Esto involucra la condensación de las unidades de shikimato y acetato para formar benzofenonas intermedias, las cuales reaccionan intramolecularmente originando las xantonas como puede observarse en la Figura 7.3.

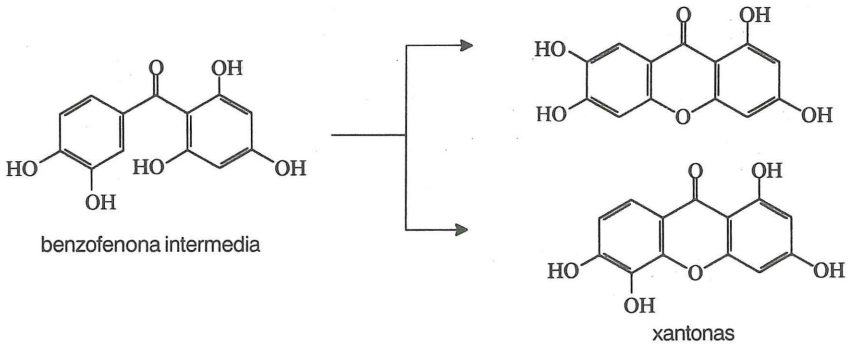


Fig. 7.3 Xantonas por la ruta mixta shikimato-acetato

Las benzofenonas intermedias pueden formarse por condensación de derivados shikimato A, B, C, D con un derivado acetato representado por los fenoles E, F ó G. Carpenter y col.<sup>2</sup> señalan los tipos de xantonas que pueden originarse de estas benzofenonas intermedias. (Fig. 7.4)

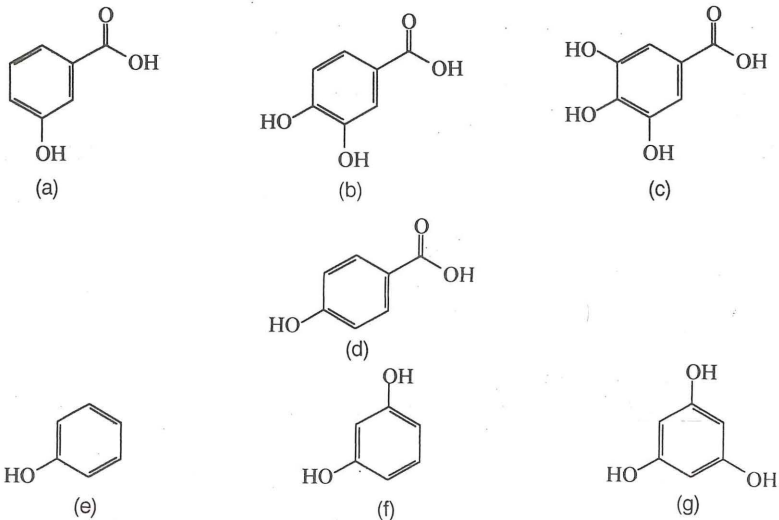


Fig. 7.4 Derivados shikimato y acetato para la formación de benzofenonas intermedias

En plantas inferiores parece que las xantonas se biosintetizan totalmente por la ruta policétida acetato-malonato (Fig. 7.5)<sup>5</sup>.

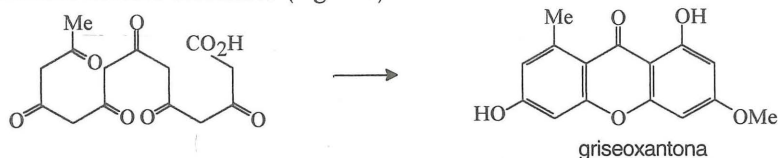


Fig. 7.5 Xantona formada por la ruta policétida acetato-malonato

### Extracción y Aislamiento

Las xantonas pueden ser extraídas con los solventes  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  y MeOH del material seco que las contiene y ser separadas por CCD, utilizando diferentes adsorbentes y sistemas de elución<sup>7</sup>, según se presentan en la Tabla 7.1.

Otras técnicas cromatográficas usuales son, la filtración en Sephadex LH-20 con MeOH o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ :MeOH (1:1) y el HPLC. El HPLC –especialmente utilizando el detector arreglo de diodos– es de suma importancia para el análisis de extractos crudos de

Tabla 7.1 Separación de xantonas por cromatografía de capa delgada<sup>7</sup>

Xantonas	Adsorbentes	Sistemas de elución		
agliconas	gel de sílice	n-hex:AcOEt	2:3	
		benceno:AcOEt	3:1	
		$\text{CHCl}_3$ :AcOEt, prop. variadas		
		bz: $\text{CHCl}_3$	3:7, 1:1	
		$\text{CHCl}_3$ :MeOH	7:3	
		$\text{CHCl}_3$ :AcOH	4:1	
		tol:AcOEt:EtOH	7:3:1	
		poliamida	MeOH:AcOH:H <sub>2</sub> O	90:5:5
			$\text{C}_6\text{H}_6$ :MeOH:AcOH	45:32:16
		glicósidos	gel de sílice	Py:H <sub>2</sub> O:EtOAc:MeOH
AcOEt:MeOH:H <sub>2</sub> O	21:4:3			
poliamida	MeOH:H <sub>2</sub> O		9:1	
	MeOH:H <sub>2</sub> O:AcOH		90:5:5	
celulosa	AcOH		5-30%	

plantas conteniendo flavonoides y xantonas ya que provee de los espectros UV de cada componente conforme ocurre la elución, puede utilizarse columnas RP<sub>18</sub> con sistema de elución como H<sub>2</sub>O:MeCN (0,05% TFA) y detector UV 254 nm.

La Figura 7.6 presenta el HPLC del extracto de *Gentianella tristicha* y los espectros UV de cada uno de los picos eluidos<sup>14</sup>.

Las xantonas se detectan en una CCD por su coloración al UV, con y sin amoniaco, con solución de KOH al 5% en MeOH o usando reveladores para grupos fenólicos.

Las xantonas glicosidadas son fácilmente recrystalizadas en metanol, y su hidrólisis puede hacerse igual que en los flavonoides, refluendo en solución MeOH/HCl.

### Identificación

Las xantonas se caracterizan por un espectro UV que presenta cuatro máximos (a menudo con intensidades decrecientes). En algunos casos, estos espectros permiten la distinción entre xantonas que poseen diferentes modelo de sustitución. las absorciones se presentan en los rangos siguientes: 225-245 (Banda I), 245-270 (Banda II), 300-345 (Banda III) y 335-410 (Banda IV); en estos rangos se encuentran las xantonas 1,3,7,8-tetraoxigenados, y si son 1,3,5,8-tetraoxigenados hay una banda adicional a ~275 nm (Banda II').

Al igual que los flavonoides, las xantonas producen desplazamientos batocrómico con álcali, AlCl<sub>3</sub> y AcONa-H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> dependiendo del número y posición de los sustituyentes

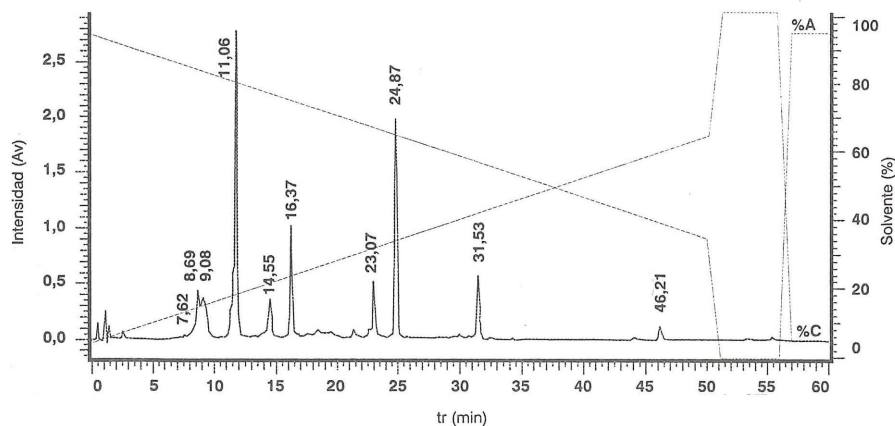
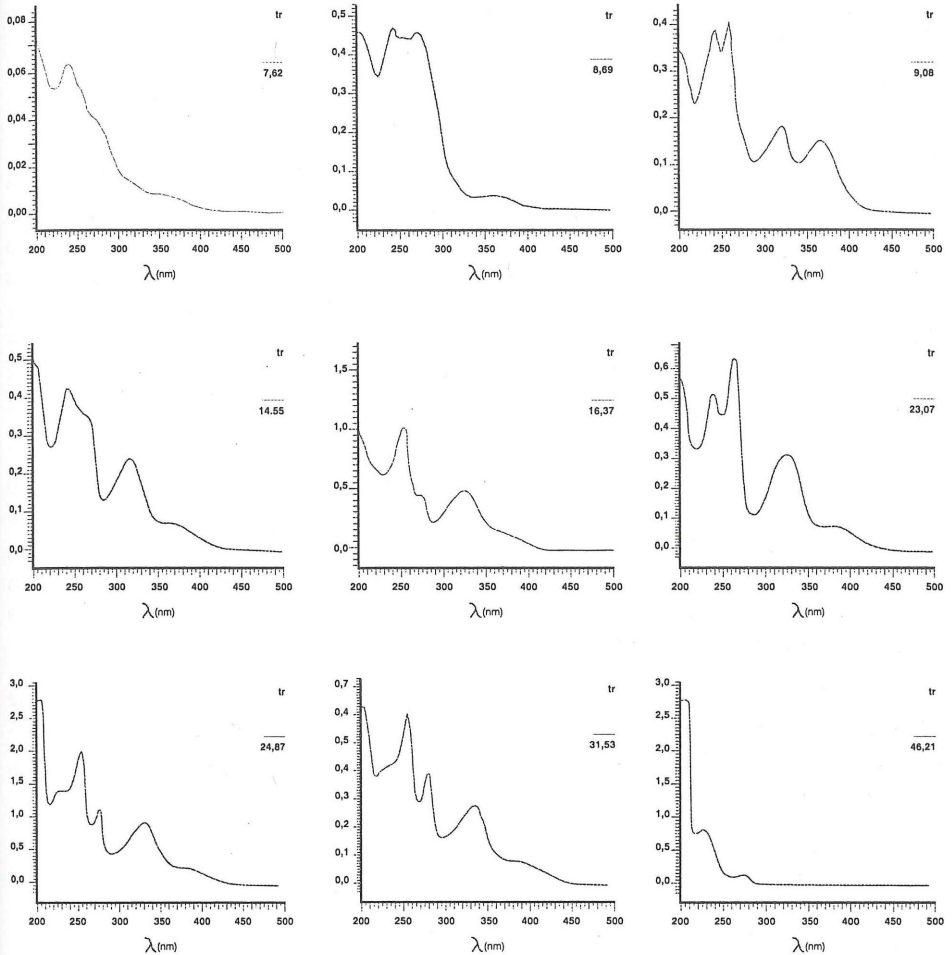


Fig. 7.6 Cromatograma (HPLC) y espectros ultravioleta de los componentes del extracto de *Gentianella tristicha*

continúa Fig. 7.6



hidroxilos. Así un fuerte desplazamiento con  $\text{AlCl}_3$  indica la presencia del grupo OH "peri" a la función carbonilo (posición 1 ó 8), por la formación de un complejo el cual es estable a HCl, mientras que los o-dihidroxi también forman complejos, pero no son estables en HCl; con  $\text{NaOAc-H}_3\text{BO}_3$  hay desplazamiento batocrómico de la banda 300-345 nm, con incremento de intensidad, cuando hay -OH en posición C-3 o C-6; una base más fuerte como NaOMe es capaz de desprotonar todos los -OH con excepción de aquellos en posición "peri".

En el IR presentan señales características a  $1640\text{-}1660\text{ cm}^{-1}$  del carbonilo conjugado, así como a  $1610$  y  $1596\text{ cm}^{-1}$  del sistema aromático.

En el RMN- $^1\text{H}$  una señal singulete a campo bajo ( $\delta$  11,7-13,4 ppm) confirmaría la presencia del grupo hidroxilo quelatado en el C-1. Un par de protones aromáticos meta-relacionados producen señales a  $\delta$  6,3 (H-4) y  $\delta$  6,5 (H-2), esto indicaría una disustitución -1,3- en el anillo A. Un par de protones aromáticos orto-relacionados puede aparecer, por ejemplo, a  $\delta$  7,0 y 7,8 (H-7 y H-8, respectivamente) o  $\delta$  6,8-7,2 y 7,2-7,5 (H-5 y H-6, respectivamente). Los grupos metoxilos se presentan como singulete entre 3,90-4,10 ppm y el grupo metilendioxi a 6,0-6,1 ppm. Singuletes entre  $\delta$  2,40 y 2,50 son indicativos de acetilación "peri" a la función carbonilo; para otras posiciones del anillo, el singulete del acetilo aparece entre 2,30 y 2,35 ppm.

En el RMN- $^{13}\text{C}$  el grupo carbonilo aparece generalmente entre los 178,0 y 184,0 ppm, dependiendo si esta mono- o diquelatado, correspondiendo a los valores a campo más bajo cuando hay la doble quelación debido al 1,8-di-OH, si no hay quelación aparece a 174-175 ppm. Para los carbonos del sistema aromático es también notorio los valores diferentes que presentan si están o no oxigenados, siendo los oxigenados los que aparecen desplazados a campo más bajo.

En la Figura 7.7 se encuentran algunos ejemplos de xantonas con los valores de RMN- $^1\text{H}$  y RMN- $^{13}\text{C}$  reportados y en la Figura 7.8 el cromatograma HPLC y los espectros ultravioleta de la desmetilbellidifolina-8-O-glucósido, bellidifolina-8-O-glucósido, genhsiona, bellidifolina y swertianina<sup>15</sup>.

## 7.2 CLOROFILA

### Introducción

Clorofila es el nombre aceptado para los pigmentos verdes presentes en los tejidos fotosintéticos de las plantas vivientes, incluyendo algas y algunas bacterias fotosintéticas. El término clorofila fue utilizado por primera vez por Pelletier y Caventou (1818) para describir los pigmentos complejos responsables del color verde de las hojas. Posteriormente Stokes (1864) demostró que el color verde era debido a una

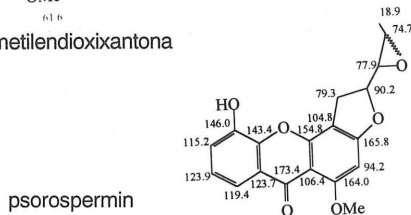
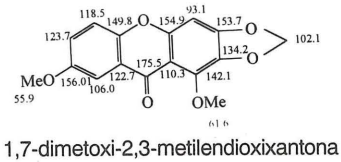
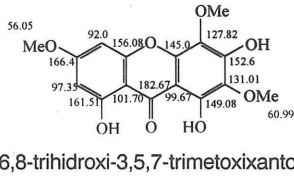
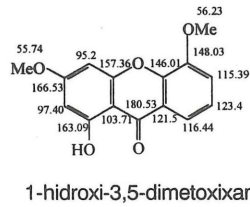
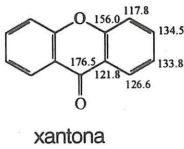
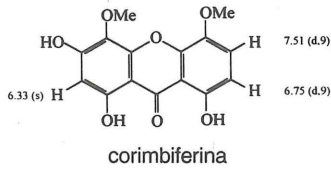
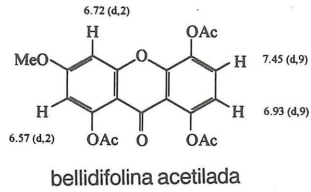
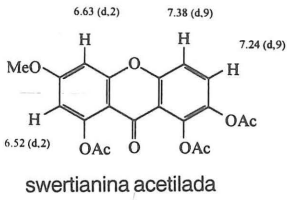


Fig. 7.7 Algunas xantonas con sus valores de RMN-<sup>1</sup>H y RMN-<sup>13</sup>C

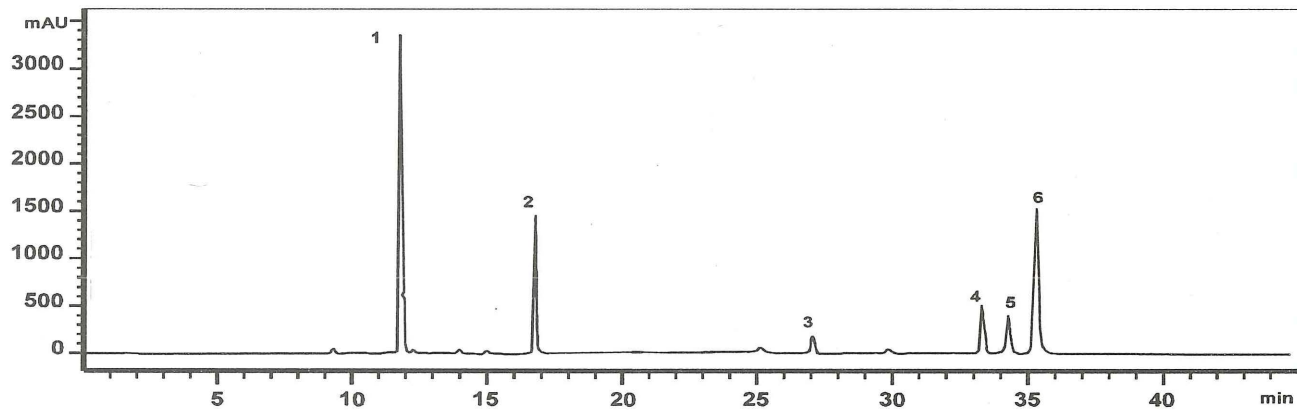
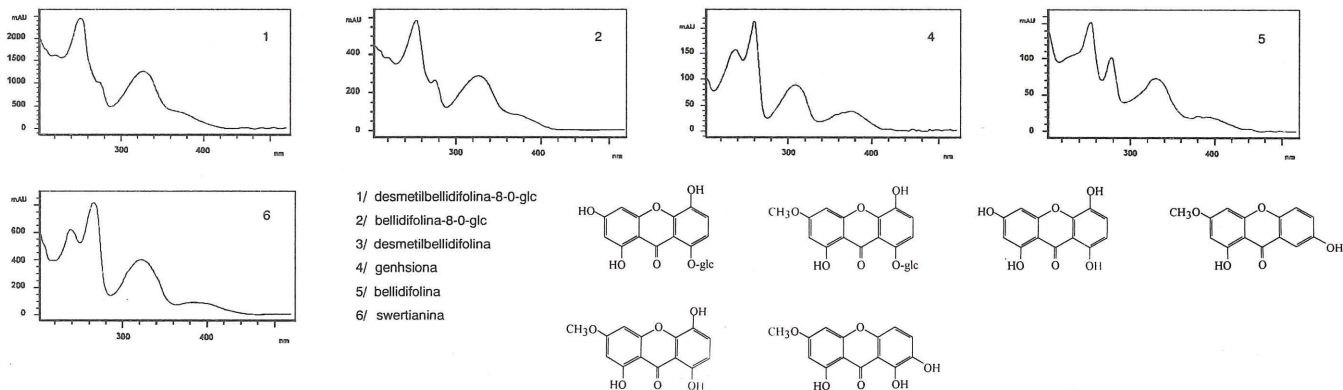


Fig. 7.8 Cromatograma (HPLC) y espectros ultravioleta de las xantonas

mezcla de dos pigmentos verdes y varios pigmentos amarillos; los pigmentos verdes fueron aislados más tarde por Sorby (1873). Tsweet en 1906 separó dos clorofilas (pigmentos verdes) de los carotenoides (pigmentos amarillos) utilizando una columna cromatográfica conteniendo sacarosa, siendo este experimento registrado como el inicio de la cromatografía. Estas clorofilas fueron originalmente conocidas como  $\alpha$  y  $\beta$ , y posteriormente como *a* y *b*. Las clorofilas *a* y *b* se encuentran asociadas en las hojas verdes de las plantas en una relación de 2:1/*a*:*b*<sup>16</sup>.

### Estructuras

Las estructuras de las clorofilas *a* y *b* se muestran en la Figura 7.9. Químicamente contienen un núcleo de porfirinas (tetrapirrol) con un átomo de magnesio quelatado en el centro y una cadena larga de hidrocarburo (fitilo) unida a un grupo carboxilo. La clorofila *b* difiere de la clorofila *a*, en que tiene un grupo aldehído en vez del grupo metilo en el anillo de pirrol ubicado en el tope superior derecho. La determinación de estas estructuras tardó un tiempo aproximado de 60 años (desde finales del siglo pasado hasta los años 60)<sup>16,17</sup>.

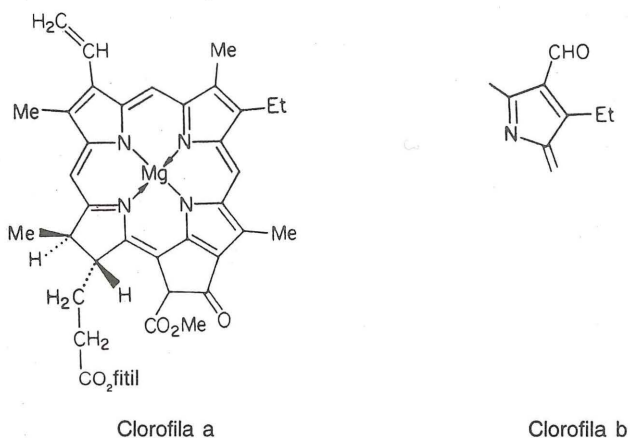


Fig. 7.9 Clorofilas a y b

### Extracción e Identificación

Las clorofilas pueden ser extraídas de un gran número de hojas verdes, pero generalmente se usa pasto o cespéd (grass), ortiga o alfalfa.

La extracción se realiza sobre el material fresco; una metodología es la siguiente: hacer primeramente una extracción con metanol (este extracto debe ser descartado)

y luego con una mezcla de metanol y éter de petróleo (x 2); se descarta nuevamente la fase metanólica inferior; la fase etérea se lava con porciones de agua, con agitación. Finalmente la fase etérea se seca con sulfato de sodio anhidro por unos 30 minutos, y el extracto es almacenado a baja temperatura quedando listo para su concentración posterior o su separación cromatográfica<sup>17-18</sup>.

Para la CCD sobre sílicagel puede utilizarse el sistema ciclohexano (o isooctano):acetona:éter etílico, 2:1:1, que produce una buena separación de las clorofilas a y b, o el sistema EP(60-80°C):acetona:n-propanol, 90:10:0,45 sobre celulosa MN 300<sup>17-18</sup>. En todos los casos es preferible hacer la corrida cromatográfica en la oscuridad.

Las clorofilas pueden visualizarse en la CCD como manchas verdosas a la luz del día y como manchas fluorescentes de color rojo a la luz UV. Si las clorofilas se descomponen durante la cromatografía es inevitable observar ocho manchas, correspondientes a diferentes productos de descomposición<sup>18</sup> (Tabla 7.2).

**Tabla 7.2.** Valores de Rf y colores de las clorofilas a y b en cromatografía de capa delgada<sup>18</sup>

Pigmento	Rf x 100	Color a la luz del día	Naturaleza del artefacto
Feofitina a	94	gris	} clorofila libre de Mg
Feofitina b	80	amarillo-marrón	
Clorofila a	60	verde-azulado	
Clorofila b	35	verde-amarillento	
Feoforbido a	18	gris	} clorofilidas sin Mg
Feoforbido b	07	amarillo-marrón	
Clorofilida a	03	verde-azulado	} clorofila sin cadena lateral
Clorofilida b	02	verde-amarillento	

CCD, celulosa 300 MN en éter de petróleo (60-80°C):acetona:n-propanol, 90:10:0,45.

Las clorofilas se diferencian también por sus curvas de absorción en el Vis; presentan un pico mayor a ~400 nm, varios picos menores entre 500 y 600 nm, y nuevamente un pico mayor sobre 625 nm (663 y 645 nm para clorofilas a y b respectivamente)<sup>18,19</sup> (Fig. 7.10). Otras características de las clorofilas son:

	color	pf, °C	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm
clorofila a	verde-azulado	117-120	663
clorofila b	verde-amarillento	86-92	645

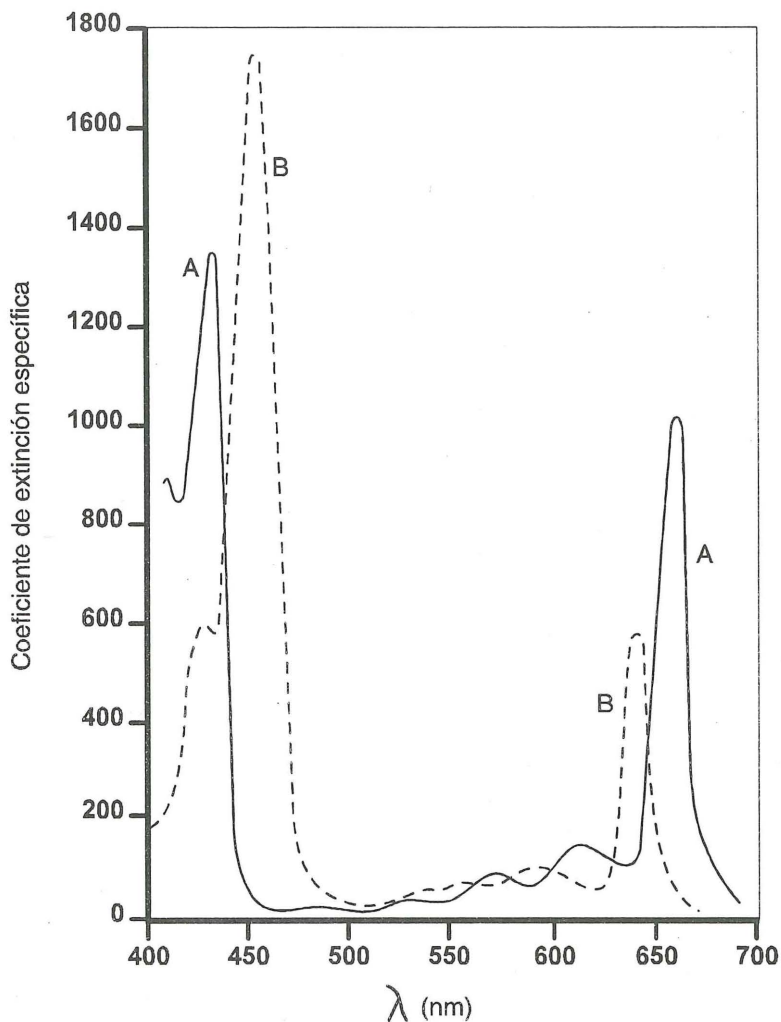


Fig. 7.10 Espectros en el visible de las clorofilas a y b

## REFERENCIAS

1. Roberts, J.C. (1961) *Chem. Rev.* **61**, 591.
2. Carpenter, I., Locksley, H.D., Scheinmann, F. (1969) Xanthones in higher plants. Biogenetical Proposal and a Chemotaxonomy Survey. *Phytochem.*, **8**, 2013-2026.
3. De Mata Rezende, C.M.A., Gottlieb, O.R. (1973) *Biochem. Syst. Ecol.*, **1**, 111-118.
4. Hostettmann, K., Wagner, H. (1977) Xanthones glycosides. *Phytochem.*, **16**, 821-829.
5. Sultanbawa, M.V.S. (1980) Xanthonoids of Tropical Plants. *Tetrahedron*, **36**, 1465-1506.
6. Bennett, G.J., Hiok-Huang Lee (1989) Xanthones from Guttiferae. *Phytochem.*, **28**, 967-998.
7. Hostettmann, K., Hostettmann, M. (1994) Xanthones. En *Methods in Plant Biochemistry* (Harborne, J.B., ed.), *Academic Press, London*, p. 493-508.
8. Peres, V., Nagem, T.J. (1997) Trioxxygenated Naturally Occurring Xanthones. *Phytochem.*, **44**, 191-214.
9. Wolfender, J.L., Hamburger, M., Msonthi, J.D., Hostettmann, K. (1991) Xanthones from *Chironia krebsii*. *Phytochem.*, **30**, 3625-3629.
10. Sordat-Diserens, I., Hamburger, M., Rogers, C., Hostettmann, K. (1992) Dimeric Xanthones from *Garcinia livinstonei*. *Phytochem.*, **31**, 3589-3593.
11. Fujita, T., Liu, D.Y., Ueda, S., Takeda, Y. (1992) Xanthones from *Polygala tenuifolia*. *Phytochem.*, **31**, 3997-4000.
12. Harrison, L.J., Leong, L.S., Sia, G.L., Sim, K.Y., Tan, H.T. (1993) Xanthones from *Garcinia forbesii*. *Phytochem.*, **33**, 727-728.
13. Abou-Shoer, M., Suwanborirux, K., Habib, A.A., Ching-Je Chang, Cassidy, J.M. (1993) Xanthone and Vismiones from *Psorospermum febrifugum*. *Phytochem.*, **34**, 1413-1420.
14. Callo, N., Alvarez, C., Barcelli, V., Lock de Ugaz, O. Resultados aún no publicados.
15. Callo, N., Alvarez, C., Lock de Ugaz, O., Hostettmann, K. Resultados aún no publicados.
16. Jackson, A.H. (1976) Structure, Properties and Distribution of Chlorophylls. En *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments* (T.W. Goodwin, ed.). *Academic Press, London*, p. 1-57.
17. Hendry, G.A.F. (1992) Chlorophylls and chlorophyll derivatives. En *Natural Food Colorants* (Hendry, G.A.F. and Houghton, J.D. eds.). *Blackie, N.Y.*, p. 79-102.
18. Harborne, J.B. (1980) *Phytochemical Methods*. *Chapman and Hall, London*.
19. Diehi-Jones, S.M. (1984) Chlorophyll Separation an Spectral Identification. *J. of Chem. Ed.*, **61**, 454-456.

## Capítulo VIII

# COLORANTES NATURALES PARA ALIMENTOS

### 8.1 ACHIOTE Y BIXINA<sup>1-5</sup>

#### *Aspectos Generales*

Achiote es el nombre común para la especie-*Bixa orellana L.* (Bixaceae), pequeño arbusto indígena de la zona subtropical andina y de latinoamérica; su fruto es una cápsula, cuya semilla contiene un colorante color rojizo, en concentración de alrededor de 3% en las semillas de mejor calidad. El término orellana es debido a Francisco de Orellana, quien fue el primer conquistador que exploró el río Amazonas en 1541. Otros nombres comunes para la *Bixa orellana L.* son bija, urucú, annatto, siendo éste último el más utilizado comercialmente.

El achiote ha sido utilizado desde Antiguo por los indios para pintarse el cuerpo de color rojo (pintura de guerra), como colorante en la textilería y en la cerámica, y como repelente de insectos.

El Perú es el mayor exportador de semillas de achiote; es cultivado en los departamentos de Amazonas, Cusco, Huánuco, Junín, Loreto, Madre de Dios, San Martín y Ucayali. Otros países productores son Kenia, India, Brasil, Bolivia, Ecuador, Jamaica y República Dominicana.

#### *La Materia Colorante*

Es la bixina (éster monometílico del ácido 6,6'-diapo- $\psi,\psi$ -carotenodioico), de fórmula molecular  $C_{25}H_{30}O_4$  (PM 394,49), insoluble en agua, ligeramente soluble en aceite, y de color naranja a púrpura, su  $\lambda_{\text{máx}}$  (CHCl<sub>3</sub>) es 509,5 , 475, 443 nm y su

absortividad  $E^{1\%}_{1\text{cm}}$  2870 a 502 nm en  $\text{CHCl}_3$ . Fue aislado por primera vez por Boussingault en 1825 y su fórmula molecular determinada por Heiddushka y Panzer en 1914.

Las semillas de achiote contienen principalmente la cis-bixina, con pequeñas cantidades de la trans-bixina. Por calentamiento la cis-bixina se isomeriza a la forma trans que es la más estable, y por hidrólisis alcalina se convierte en norbixina (ácido dicarboxílico), soluble en agua.

La norbixina ( $\text{C}_{24}\text{H}_{28}\text{O}_4$ ) presenta un  $\lambda_{\text{máx}}$  482 nm y una absortividad  $E^{1\%}_{1\text{cm}}$  de 2870 a 482 nm en  $\text{NaOH}$  0,1 N.

En la Figura 8.1 se encuentran las estructuras de la bixina y norbixina, en la Figura 8.2 los espectros UV-V e IR de la bixina, y en la Figura 8.3 las semillas de achiote y su extracto\*\*.

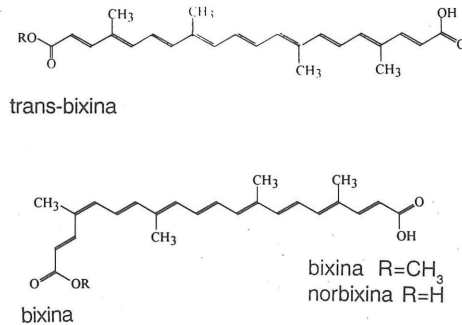


Fig. 8.1 Bixina y Norbixina

### Formas de Presentación y Aplicaciones

- Polvo de annatto grado alimenticio

Se obtiene mediante extracción alcalina de las semillas seguido de una precipitación del extracto con ácido mineral separándose un polvo, que luego de secado puede contener hasta 30% de bixina.

- Polvo de annatto soluble en álcali frío

Se obtiene mediante extracción alcalina de la semilla y procesada para producir un polvo el cual es soluble en álcali frío, contiene hasta 30% de norbixina. Este

\* En algunos casos no hay coincidencia en los valores de absorción reportados para los colorantes en las diferentes referencias bibliográficas. Para la bixina se ha obtenido  $\lambda_{\text{máx}}$  501, 469, 445 nm (PUCP, PE Lambda 2)

\*\* Las Fig. 8.3, 8.5, 8.8, 8.11, 8.14, 8.17, 8.20, 8.23, 8.24 y 8.26 se encuentran al final del capítulo.

polvo se comercializa también en solución diluída de hidróxido de potasio, conteniendo norbixina entre 0,5% a 4,0%.

- *Extracto liposoluble*

Se obtiene utilizando un aceite vegetal como extractante en las semillas pretratadas con agua o vapor de agua, el contenido de colorante en la solución amarilla es de 0,2 a 0,3%.

- *Suspensión en aceite*

Se obtiene al incorporar el pigmento no disuelto al aceite vegetal formándose una suspensión microcristalina, puede contener hasta 4% de bixina (cis y trans). Esta suspensión de bixina en aceite es de color naranja.

Las especificaciones técnicas para los extractos oleosos o acuosos de annatto son:

arsénico	< 3 mg/kg
plomo	< 10 mg/kg
metales pesados	< 40 mg/kg
solventes residuales	
– diclorometano, triclorometileno	< 30 mg/kg
– acetona	< 30 mg/kg
– metanol	< 50 mg/kg
– hexano	< 25 mg/kg

- *Bixina*

La bixina se presenta como cristales romboédricos de color rojo, pf 192-198°C.

Son utilizados para dar coloración amarillenta a la mantequilla, al queso, a los productos de harina (cakes, galletas), a los cereales, a los productos cárnicos (norbixina en combinación con carmín), a las bebidas no alcohólicas (norbixina 1-10 ppm); a los dulces, y a los helados de sabor de vainilla.

Al extracto de achiote se le conoce como Naranja Natural 4 y la norbixina puede sustituir al Sunset Yellow ( $\lambda_{\text{máx}}$  480 nm, E<sup>1%</sup> 551).

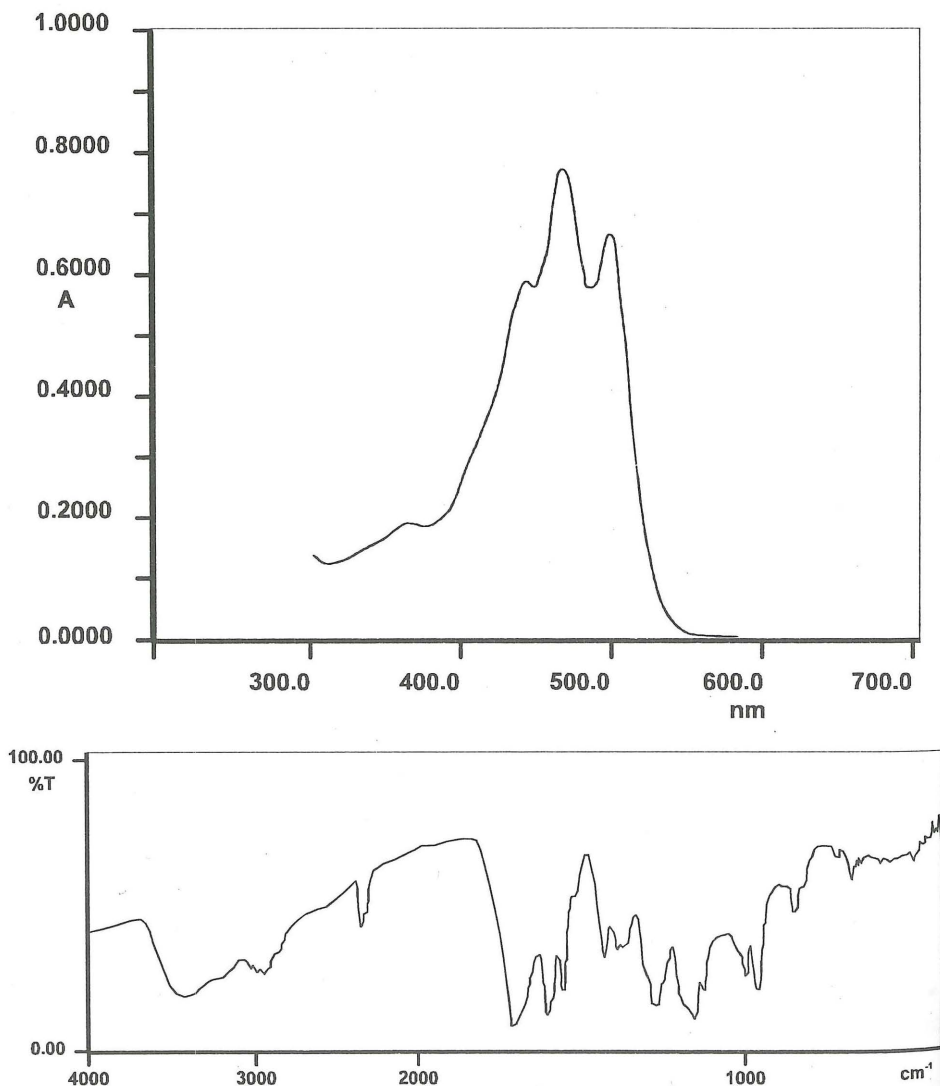


Fig. 8.2 Espectros UV-V e IR de la bixina

\* Todos los espectros UV-V, IR y los cromatogramas HPLC fueron corridos en nuestros laboratorios de química de la PUCP. Los equipos utilizados fueron: espectrofotómetro UV-V, PE Lambda 2, espectrofotómetro IR, PE Serie 1600 FT, cromatógrafo líquido HPLC, PE Bomba binaria mod. 250, Detector UV-V mod. LC 95. Agradecemos a la Ing. Isabel Cabello por la preparación de los extractos, y a las Quim. Milka Cajahuanca y Carmen Alvarez por correr los espectros UV-V e IR, y los cromatogramas respectivamente.

8.2 AZAFRAN Y CROCINA <sup>1-3</sup>*Aspectos Generales*

El azafrán o saffrón es el nombre común para la especie *Crocus sativa L.* (familia Iridaceae). Es nativa de la región Mediterránea, y cultivada en España, Francia, Italia, India, entre otros países.

El estigma seco del azafrán se utiliza como colorante amarillo y como agente saborizante. Se requiere de 100000 a 140000 flores para obtener 1 kg de azafrán en polvo, de ello se deduce que es una especie muy costosa.

La medicina popular lo utiliza como sedativo, diaforético, antiespasmódico, emenagogo, expectorante, afrodisiaco, para el tratamiento de la depresión, entre otros.

*La Materia Colorante*

Es la crocina (éster de la crocetina con dos moléculas de gentiobiosa). Su fórmula molecular es  $C_{44}H_{64}O_{24}$ ;  $\lambda_{\text{máx}}$  (MeOH) 464, 434 nm, soluble en agua, ligeramente soluble en alcohol absoluto y éter. Se encuentra en las flores del azafrán aproximadamente en un 2%.

La crocetina  $C_{20}H_{24}O_4$  (ácido 8-8'-diapocarotenodioico) se presenta como cristales de forma rómbica de pf 285°C;  $\lambda_{\text{máx}}$  464, 436, 411 nm en Py; 452, 427, 403 nm en EtOH; 462, 433, 415 nm en  $CHCl_3$ . Soluble en Py y en NaOH, poco soluble en agua y en solventes orgánicos usuales.

En la Figura 8.4 se encuentran las estructuras de la crocina y crocetina, y en la Figura 8.5 las flores de azafrán y su extracto, así como la cromatografía de capa delgada del extracto.

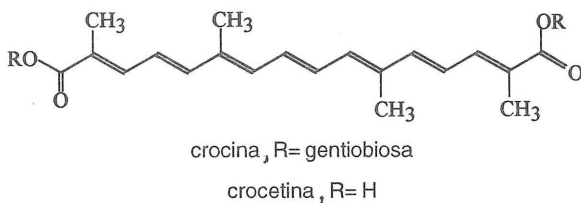


Fig. 8.4 Crocina y Crocetina

### Forma de Presentación y Aplicaciones

- Polvo de azafrán

Son las flores secas pulverizadas, contiene crocina-1 (~ 2%), picrocina (~ 2%, principio amargo), pequeñas cantidades de crocina-2 (éster de crocetina con una molécula de gentiobiosa y una de glucosa), crocina-3 (éster de crocetina con una molécula de gentiobiosa), crocina-4 (éster de crocetina con una molécula de glucosa), crocetina ( $\alpha$ -crocetina), metilcrocetina ( $\beta$ -crocetina), aceite fijo (8-13%); aceite volátil (0,4-1,3%) conteniendo principalmente safronal, oxisafronal, pineno, cineol, lactona del ácido 2-butenoico, 2-feniletanol, 3,5,5-trimetil-4-hidroxi-1-ciclohexanona-2-eno, entre otros.

El azafrán y su extracto son utilizados como agentes de coloración (amarillo) en bebidas alcohólicas y no alcohólicas, en caramelos, en productos de panadería, en productos alimenticios (es el responsable del color amarillo de la "paella") y como sustituto del Amarillo N°5, Tartrazina sintética.

## 8.3 BETARRAGA Y BETANINA <sup>1-4,6</sup>

### Aspectos Generales

La betarraga, *Beta vulgaris L.*, ha sido cultivada por cientos de años en climas templados. Su raíz es una fuente excelente de color debido a su contenido de una mezcla de pigmentos rojos (betacianinas) y pigmentos amarillos (betaxantinas).

En el Perú se usa mayormente como alimento en forma de ensalada; se cultiva en Lima y Junín principalmente.

### La Materia Colorante

El color rojo característico de la betarraga es debido a la betanina (betacianina, roja) que representa el 75 a 90% del color total presente, y a las vulgaxantinas I y II (betaxantinas, amarilla). La proporción en la que se encuentran las betacianinas y betaxantinas origina diferencias en la coloración de la betarraga; algunas variedades de betarraga contienen hasta 200 mg de betacianina / 100 g del material.

La betanina es de un color rojo intenso, más fuerte que muchos colorantes sintéticos (Tabla 8.1). Su fórmula molecular es  $C_{24}H_{26}N_2O_{13}$ , su  $\lambda_{m\acute{a}x}$  537 nm, y su absorptividad  $E^{1\%} = 1120$  en solución buffer pH 5 a  $\lambda_{m\acute{a}x}$  cercano a 530 nm.

En la Figura 8.6 se encuentran las estructuras de la betanina y la vulgaxantina, en la Figura 8.7 los espectros UV-V, IR, RMN-<sup>1</sup>H para la betanina, y en la Figura 8.8 la betarraga y su extracto

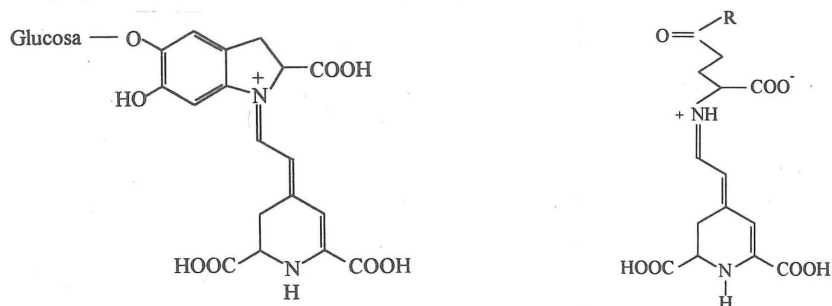


Fig. 8.6 Betanina y Vulgaxantina

**Tabla 8.1.** Fuerza colorante comparativa de la betanina con algunos colorantes sintéticos equivalentes

Color	E <sup>1%</sup>	λ <sub>máx</sub> (nm)
betanina	1120	537
amaranto	438	523
carmoisina	545	515
ponceau 4R	431	505

### Formas de Presentación y Aplicaciones

- *Jugo concentrado*

Se procesa de manera similar que para producir jugo de fruta, utilizando técnicas de presión o difusión. El jugo se centrifuga, pasteuriza y concentra para producir un líquido viscoso concentrado que contiene aproximadamente 0,5% de betanina y 70% de azúcar.

- *Jugo atomizado*

Se obtiene cuando el jugo concentrado se seca por atomización utilizando maltodextrina como un vehículo, con un contenido de betanina entre 0,4 y 0,7%.

Debido a la sensibilidad de la betanina al calor, oxígeno y luz, su uso como colorante de alimentos es restringido, aplicándose especialmente a productos secos o

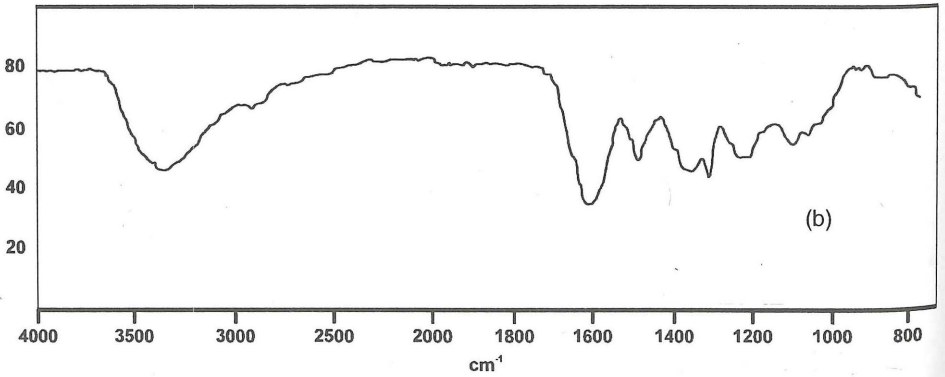
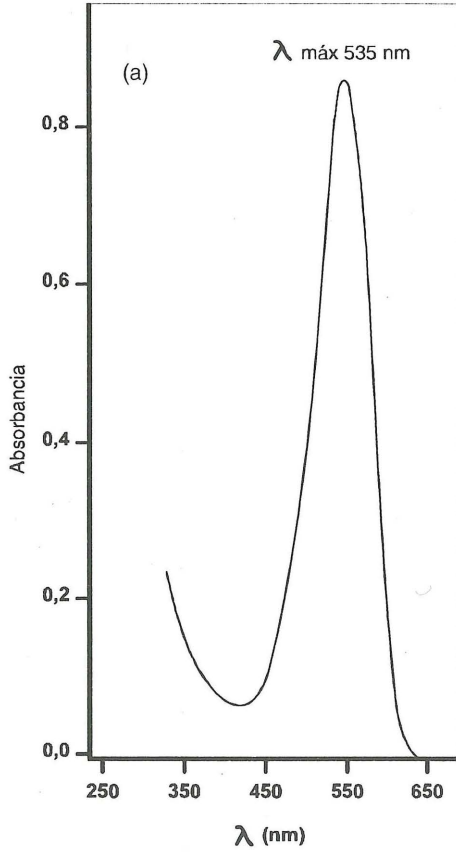
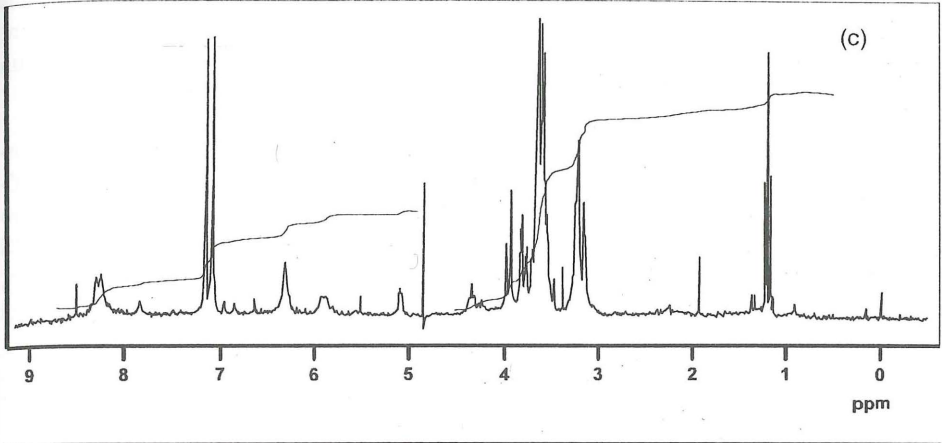


Fig. 8.7 Espectros de la betanina (a) visible, (b) IR, (c) RMN- $^1\text{H}$

continúa Fig. 8.7



con bajo contenido de humedad. Algunas de sus aplicaciones son en helados (15-25 ppm de betanina), yogurt (4-8 ppm de betanina), mezclas secas como sopas, gelatinas y postres. Muchas veces se combina con extractos de annatto para obtener otros matices.

#### 8.4 COCHINILLA Y ACIDO CARMINICO <sup>1,2,4</sup>

##### Aspectos Generales

Cochinilla es el nombre con el que se conoce al insecto *Dactylopius coccus* Costa (*Coccus cacti* L.). Ha sido conocido desde la época prehispánica por los peruanos y aztecas quienes lo utilizaron como fuente de color rojo, posteriormente los conquistadores españoles la llevaron a Europa a través de las Islas Canarias.

La cochinilla como todo insecto coccide, está asociada a una planta hospedera específica, en este caso con especies de cactus; por ejemplo, en el Perú se desarrolla en el cactus *Opuntia ficus-indica* y en las Islas Canarias lo hace en el cactus *Nopalea cocherillifera*.

El Perú es la fuente principal de cochinilla en el mundo. Se exporta principalmente a Alemania, Francia, Bélgica, Japón e Italia. En este último país se exporta a la fábrica, CAMPARI, quien la utiliza para colorear su bebida.

## La Materia Colorante

La materia colorante es el ácido carmínico que se obtiene de las hembras desecadas de la cochinilla; ellas contienen aproximadamente 18 a 23% de ácido carmínico sobre su peso seco. Por lo general, el ácido carmínico es extraído bajo la forma de un complejo metálico, el que se conoce como carmín (o carmín de cochinilla).

El ácido carmínico, de fórmula molecular  $C_{22}H_{20}O_{13}$  y  $[\alpha]_{654} + 51,6^\circ$  ( $H_2O$ ), presenta la forma de prisma de color rojo, muy soluble en agua, insoluble en éter de petróleo, benceno, cloroformo; su color varía con el pH, naranja a pH 3, rojo a pH 5 y rojo azulado a pH 7. Su  $\lambda_{\max}$  es 500 nm ( $\epsilon$  6800) en  $H_2O$ , 490-500 nm ( $\epsilon$  5800) en HCl 0,02N y 540 nm ( $\epsilon$  3450) en NaOH 0,0001N. La intensidad de su color es relativamente bajo, teniendo un  $E^{1\%}$  de únicamente 175 en HCl 2N a  $\lambda_{\max}$  de 494 nm. Está clasificado en el Color Index como C.I. Rojo Natural 4 ó C.I. 75470.

Químicamente el ácido carmínico es el ácido 7- $\alpha$ -D-glucopiranosil-9,10-dehidro-3,5,6,8-tetrahidroxi-1-metil-9,10-dioxi-2-antracen-carboxílico.

En la Figura 8.9 se encuentra la estructura del ácido carmínico y en la Figura 8.10 los espectros UV-V e IR del ácido carmínico, así como su cromatograma (HPLC). En la Figura 8.11 se muestra el cactus hospedero de la cochinilla, la cochinilla y lacas de carmín de diferentes colores.

El carmín es el complejo metálico formado entre el ácido carmínico y metales como aluminio y calcio, es soluble en solución alcalina e insoluble en agua y en ácido. Su color es rojo a pH 4,0 y rojo-azulado a pH 10,0. La intensidad de color del carmín es el doble que la del ácido carmínico.

Las especificaciones técnicas para el carmín son:

ácido carmínico	> 50,0%
materia volátil (a 135°C, por 3h)	< 20,0%
cenizas	< 12,0%
plomo (como Pb)	< 10 ppm
arsénico (como As)	< 1 ppm

Aunque el carmín y el ácido carmínico tienen un efecto visual menor que las betalainas y antocianinas, por lo que la concentración a utilizar debe ser mayor, tienen la ventaja en su mayor estabilidad, utilizándose por ello en productos que deben ser sometidos a calentamiento o deben ser almacenados durante un tiempo prolongado.

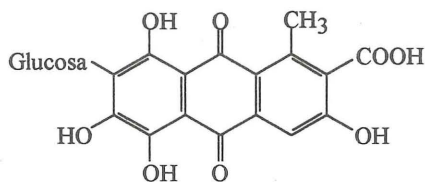


Fig. 8.9 Ácido carmínico

El carmín y el ácido carmínico son sustitutos naturales de los colorantes Rojo N°2 (Amaranto), Rojo N°3 (Eritrosina), Rojo N°19 y Rojo N°40.

#### Formas de Presentación y Aplicaciones

- *Carmín*

Es fabricado como un polvo rojo brillante (laca de aluminio y calcio) con un contenido de ácido carmínico entre 40-60%, es muy poco soluble en agua fría y soluble en soluciones alcalinas, se utiliza tanto en la industria de alimentos como de cosméticos.

- *Solución alcalina*

Se prepara la solución alcalina con un contenido de ácido carmínico de 2 a 7%, utilizando hidróxido de potasio. Esta solución alcalina puede ser secada por atomización, utilizando maltodextrina como vehículo, para producir un polvo muy soluble en agua con un contenido de ácido carmínico de 3,5 a 7%.

- *Ácido carmínico 70-95% pureza*

Se obtiene como prismas de color rojo, con punto de fusión no definido, que se oscurece a 120°C. Su solución acuosa es de un color rojo profundo y en solución ácida es amarillo a violeta, soluble en agua, álcali y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, ligeramente soluble en éter, prácticamente insoluble en éter de petróleo, benceno y cloroformo.

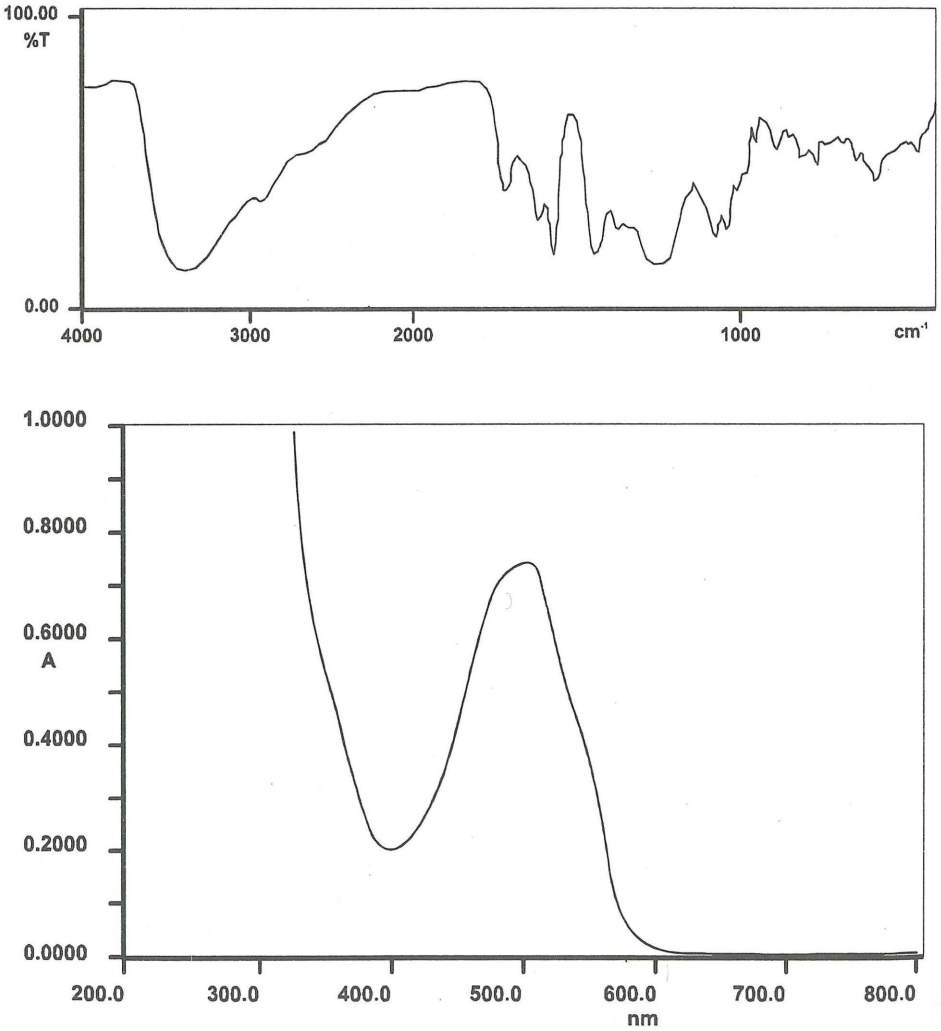
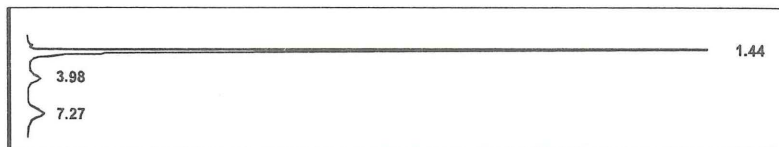


Fig. 8.10 Espectros IR y Vis, y cromatograma (HPLC) del ácido carnínico

continúa Fig. 8.10



ácido carmínico

Cromatograma HPLC

columna: Bakerbond C<sub>18</sub>, 50 x 4,6 mm, diámetro de partículas 5 μm  
 fase móvil: MeOH 50% + 0,5% ácido fosfórico  
 flujo: 0,80 mL/min  
 λ (nm): 500

## 8.5 MARIGOLD Y XANTOFILAS <sup>1-3,7</sup>

### Aspectos Generales

Los pétalos de las flores de Marigold (*Tagetes erecta* L.) contienen carotenoides, especialmente luteína y sus ésteres, como los mayores pigmentos. Es usado en forma de polvo en la alimentación de los pollos para que su piel y la yema de los huevos adquieran un color amarillo característico. Es utilizado además como antihelmíntico y emenagogo, así como para el tratamiento de tos, resfríos y cólicos.

La *Tagetes erecta* L. es una planta originaria de los Andes, conocida también como flor de muerto o clavel chino. En el Perú se cultiva en los Valles de Cañete, Barranca y Huaral. Se exporta principalmente a México y en menor extensión a España y EUA.

### La Materia Colorante

Son las xantófilas, y de ellas, principalmente la luteína y sus ésteres dipalmitato, dimiristato y monomiristato.

La luteína C<sub>40</sub>H<sub>56</sub>O<sub>2</sub> (Fig. 8.12), se presenta como prismas de color amarillo, soluble en aceite e insoluble en agua. Sus valores de λ<sub>máx</sub> reportados son:

en hexano	420, 446, 474 nm
en éter de petróleo	418, 442, 470 nm
en benceno	429, 456, 485 nm
en dioxano	429, 453, 481 nm ( $\epsilon$ 100000, 152000, 142000)

La Figura 8.13 muestra los espectros UV-V e IR del extracto de marigold y la Figura 8.14 las flores de marigold.

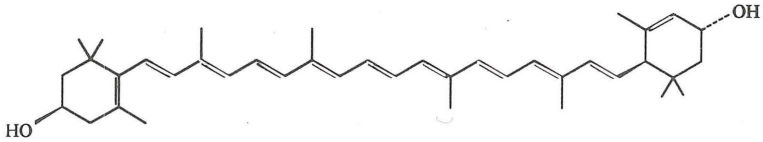


Fig. 8.12 Luteína

Estudios en diversas especies de *Tagetes*, así como de sus variedades muestran variaciones en el contenido así como en el porcentaje relativo de carotenos y de xantófilas (Tabla 8.2). La xantófila presente en el marigold varía entre 6 a 13 g/kg, dependiendo de la variedad, época de cosecha, y tiempo transcurrido desde la cosecha hasta su tratamiento. La variedad roja contiene tres veces más de carotenoides totales que la variedad amarilla.

#### *Formas de Presentación y Aplicaciones*

- *Harina de flores de marigold*

Son las flores secas y pulverizadas. Además del Perú, se producen también en México, Ecuador, Argentina y Venezuela.

- *Oleorresina de marigold*

Las flores de marigold se extraen con solvente, el extracto después de ser evaporado deja un líquido viscoso, la oleorresina, que contiene una mezcla de los compuestos volátiles y no volátiles.

- *Aceite volátil*

Es utilizado como fragancia en algunos perfumes y contiene tagetonas, ocimenos,  $\beta$ -mirceno, linalol, limoneno,  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, carvona, citral, canfeno y sali-

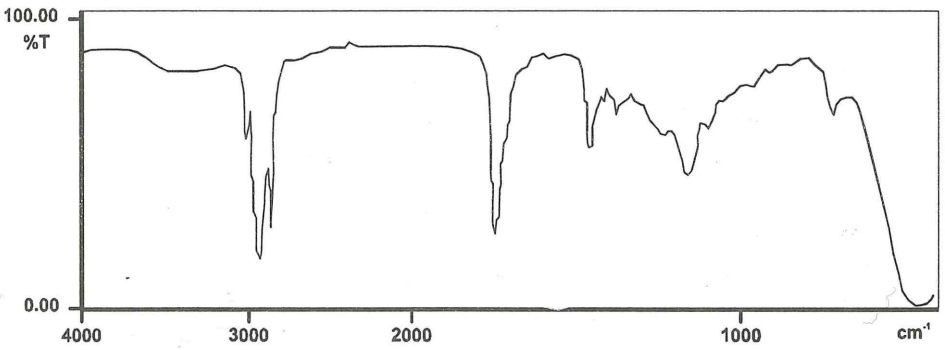
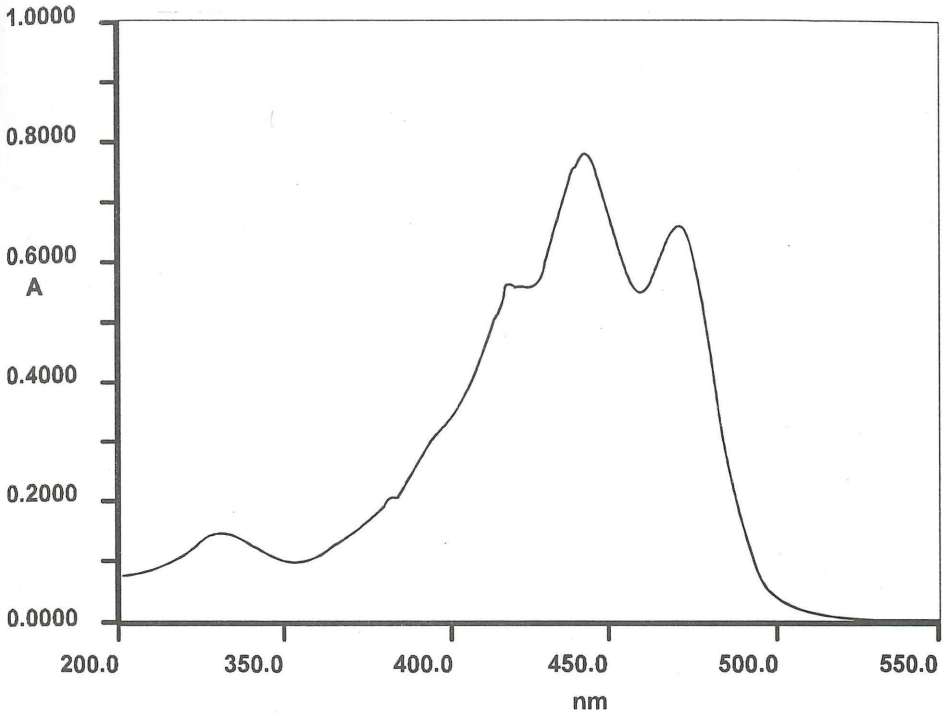


Fig. 8.13 Espectros UV-V e IR del extracto de marigold

**Tabla 8.2.** Porcentaje relativo de carotenoides en pétalos de marigold de diferentes fuentes y su  $\lambda_{\text{máx}}$ <sup>7</sup>

Carotenoide	Americano rojo amarillo		Francés rojo amarillo		Mexicano	$\lambda_{\text{máx}}$ , nm en hexano		
Fitoeno	1,9	2,4	1,9	2,9	3,1	296	285	
Fitoflueno	2,3	2,6	2,9	1,9	2,0	367	348	331
$\alpha$ -Caroteno	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	472	442	421
$\beta$ -Caroteno	0,3	0,5	0,6	0,3	0,3	475	448	424
$\beta$ -Zeaxaroteno	0,4	0,5	0,8	0,3	0,2	449	424	399
$\gamma$ -Caroteno	0,1	—	0,1	—	—	424	398	378
$\alpha$ -Criptoxantina	0,7	0,8	0,6	0,1	0,2	472	443	418
Zeinoxantina	—	—	0,4	0,7	0,8	473	445	420
Isocriptoxantina	—	—	0,1	0,1	0,1	470	440	417
$\beta$ -Criptoxantina	0,4	0,5	1,4	0,8	0,4	470	448	424
Luteína	87,3	72,3	85,5	87,3	88,0	474	446	420
Anteraxantina	0,2	0,1	0,2	0,1	0,1	475	448	422
Zeaxantina	4,0	16,4	4,1	4,0	3,6	479	451	426
Neoxantina	0,2	0,8	0,2	0,1	0,1	465	436	415
Crisantemaxantina	0,3	0,8	0,2	0,2	0,2	449	424	400
Flavoxantina	0,4	1,3	0,3	0,3	0,3	449	424	400
Auroxantina	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	425	399	378

cialdehido como mayores componentes; además de fenil-etanol, ácido valérico, ocimenonas, geraniol, p-cimeno, sabineno, cineol, acetato de linalol,  $\alpha$ -terpineol, entre otros.

- *Luteína*

Es utilizado comercialmente en algunas bebidas no alcohólicas y en postres.

El marigold y su oleorresina se utilizan como sustitutos del Amarillo N° 6, Sunset Yellow.

## 8.6 PALILLO Y CURCUMINA <sup>1-3,8,9</sup>

### Aspectos Generales

La *Cúrcuma longa* L. (familia Zingiberaceae), conocida comúnmente como palillo o cúrcuma, es una planta herbácea de 1,0 a 1,5 metros de altura. Su rizoma es grueso y muy ramificado, ha sido usado desde Antiguo como condimento en forma de polvo fino (hoy en día es uno de los principales ingredientes del polvo "curry"), también ha sido utilizado para el teñido de lana, seda y algodón, principalmente en la India.

Es oriundo de Asia Subtropical, principalmente de la India y Malasia, propagándose en Africa y América. En la actualidad la India es el mayor productor de palillo con una producción de 250 a 300 mil toneladas anuales, de las cuales de 1000 a 1500 toneladas son procesados para producir extractos. En los últimos años Pakistán, Haití, Jamaica, China y Perú han suministrado cantidades apreciables de cúrcuma a los mercados mundiales. En el Perú, mayormente se encuentra en condición de planta silvestre, las principales zonas de recolección son Ayacucho (Valle del río Apurímac), Cusco (Valle de la Convención) y Huánuco.

Según el origen geográfico se distinguen las variedades: Alleppey o Alleppey turmeric (de un color amarillo oscuro o anaranjado), Madras o Madras turmeric (de color amarillo mostaza o amarillo limón) y el Haití o Haití turmeric (de color amarillo anaranjado oscuro o café amarillento), siendo las dos primeras las más apreciadas.

El palillo o cúrcuma es también conocido como turmeric, raíz amarilla, palillo-chuncho guisador, azafrán de la India. Conviene advertir que en el Perú también se conoce como palillo a las especies *Escobedia scabrifolia* R.&P. y *Campomanesia lineatifolia* R.&P., cuyas raíces también contienen un colorante amarillo.

### La Materia Colorante

El principio colorante del palillo o cúrcuma es la curcumina 1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona, acompañado de otros curcuminoideos en pequeñas cantidades.

La curcumina es un polvo cristalino de color amarillo o naranja, de fórmula molecular  $C_{21}H_{20}O_6$  (PM 368.4), pf 183° C, soluble en alcohol, ácido acético glacial, e insoluble en agua y éter. Su  $\lambda_{m\acute{a}x}$  (EtOH) es 425 nm con una  $E^{1\%}$  de 1607.

A pH 3 es de color amarillo-limón y a pH 10 de color naranja a marrón-rojizo, es estable al calor, pero sensible a la luz (lo que limita muchas veces su aplicación).

En la Figura 8.15 se encuentra la estructura de la curcumina y otros curcuminoides en la Figura 8.16 sus espectros UV-V e IR, así como su cromatograma (HPLC) y en la Figura 8.17 la cúrcuma, polvo de cúrcuma, así como curcumina.

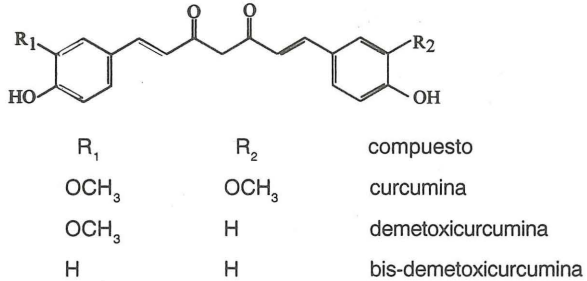


Fig. 8.15 Curcumina y otros curcuminoides

### Formas de Presentación y Aplicaciones

- *Palillo o cúrcuma en polvo*

Es el rizoma seco y molido; se presenta como “polvo grueso” o “polvo fino”, cuando no menos del 98% del producto pasa a través del tamiz #35 (500 Um) o a través del tamiz #50 (297 Um), respectivamente.

Las especificaciones técnicas para el palillo molido son:

humedad	< 10%
cenizas totales	< 8%
cenizas insolubles en HCl 10%	< 1,5%
curcumina	> 2%
extracto alcohólico	> 5%
extracto etéreo	> 10%
fibras	> 5%
aceite esencial	> 4%

- *Aceite esencial*

Es obtenido por destilación por arrastre de vapor, contiene todos los componentes volátiles “flavour” de la especie y no el color. El contenido del aceite en palillo es de 3 a 5%.

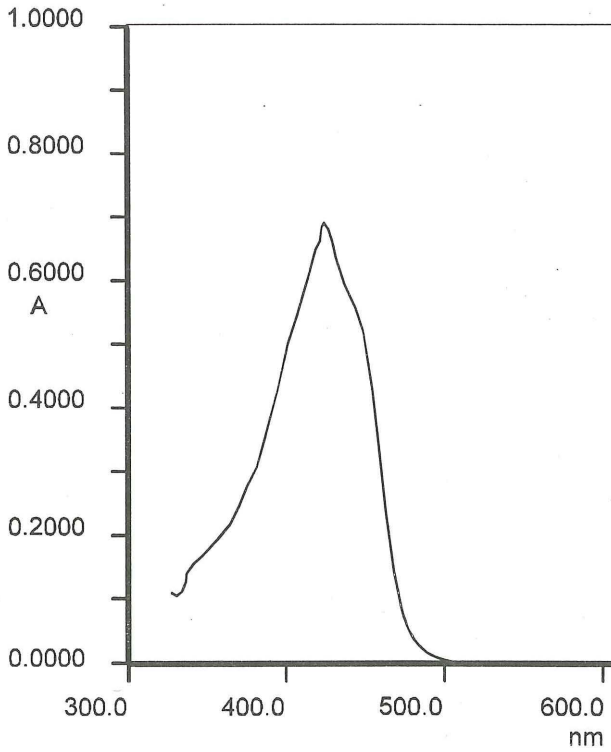
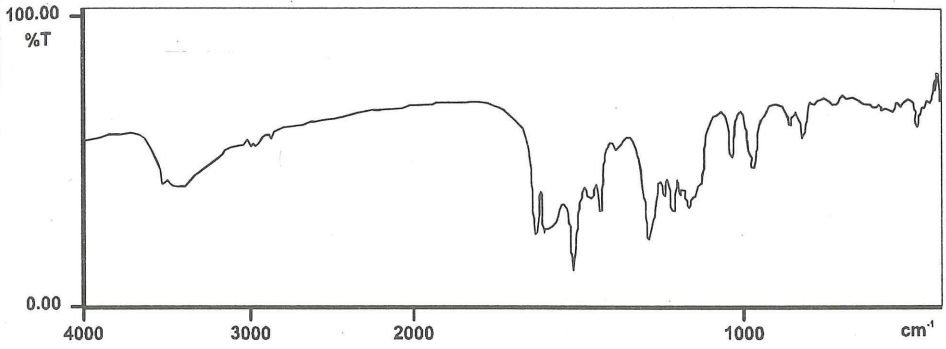
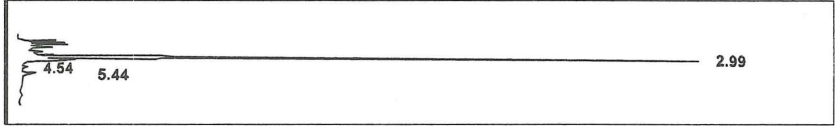


Fig. 8.16 Espectros IR, UV-V y cromatograma (HPLC) de la curcumina

continúa Fig. 8.16



curcumina

Cromatograma HPLC

columna: Ultrasphere ODS, 150 x 4,6 mm, diámetro de partículas 5  $\mu$ m  
fase móvil: acetonitrilo: agua: ácido acético (51:49:5)  
flujo: 18 mL/min  
 $\lambda$  (nm): 254

El aceite de cúrcuma es un líquido amarillo-naranja, con débil fluorescencia azulada, de olor fragante, sabor ligeramente pungente y amargo; es usado en pequeña extensión en ciertos perfumes de tipo oriental. El aceite de cúrcuma contiene turmerona (~60%),  $\alpha$ -atlantona,  $\gamma$ -atlantona y zingiberona (25%) y menores cantidades de 1,8-cineol,  $\alpha$ -felandreno, d-sabineno, borneol, entre otros.

No hay aún demanda comercial para este producto.

- *Oleorresina*

Se obtiene por extracción con solventes (éter de petróleo, hexano, alcohol etílico, u otro) de la cúrcuma en polvo. Tiene los mismos usos que la cúrcuma en polvo.

Es un líquido viscoso de color amarillo oscuro, contiene el "flavour" y el color en la misma proporción relativa que en la especia (el rizoma), contiene de 35 a 55% de curcumina.

- *Curcumina*

Se obtiene por extracción alcalina, seguida de una neutralización con ácido precipitando la curcumina, la que luego es sometida a purificación, hasta obtener la curcumina con una pureza > 95%. Se le conoce como Amarillo Natural 3. El contenido promedio de curcumina en la cúrcuma es de 3%.

La curcumina no se emplea directamente en la industria alimentaria por ser insoluble en agua y poco soluble en otros solventes; por ello generalmente, se le coloca en Polysorbato 80 que actúa como un disolvente y emulsificador. Es utilizado como reemplazo de la Tartrazina (Amarillo N°5,  $\lambda_{\text{máx}}$  426 nm,  $E^{1\%}$  527).

La oleoresina de cúrcuma así como la curcumina se emplean en la coloración de productos lácteos, principalmente en mantequillas, margarinas, quesos, en productos de panadería (tortas, galletas) y mezclado con el colorante bixina, para la coloración de confituras, helados, pudines.

También se utilizan en encurtidos (pickles), salsas y condimentos, en sopas y pures instantáneos, en la coloración de la mostaza, en helados de vainilla coloreado con una combinación de curcumina (20 ppm) y norbixina (12 ppm), en yogurt para un color amarillo-limón y en productos de harina (10-15 ppm curcumina y 5-10 ppm de norbixina).

## 8.7 PAPIKA Y CAROTENOIDES <sup>1-3,10,11</sup>

### Aspectos Generales

La paprika o pimentón se refiere al *Capsicum annuum L.*, arbusto anual de hasta 1m de altura. Es de origen americano y se considera que su área principal de domesticación debió estar en México extendiéndose luego a los países de América Central y América del Norte. Por el Sur llega solamente a los países nortños: Colombia, Ecuador, Perú. En Perú se encuentra en Amazonas, Huánuco, Loreto, Junin y San Martín.

Sus frutos son bayas de color y forma muy variados; los frutos secos y pulverizados son utilizados para dar coloración rojiza a algunos productos alimenticios, aunque algunas variedades por su contenido de capsaicina son usadas por su propiedad pungente (picante) mas que por su propiedad como colorante.

### La Materia Colorante

Es una mezcla de carotenoides, principalmente capsantina, capsorrubina y  $\beta$ -caroteno, los que le confieren el color naranja-rojizo.

La capsantina,  $C_{40}H_{56}O_3$ , es el 3,3'-dihidroxi- $\beta$ ,k-caroten-6'-ona; se presenta en forma de agujas color rojo-carmín, pf 181-182°C, su  $\lambda_{\text{máx}}$  es 482 nm con una  $[a]_{\text{D}}^{25} + 36^\circ$  ( $\text{CHCl}_3$ ). Otros valores de  $\lambda_{\text{máx}}$  reportados son 466, 496 nm en éter de petróleo y 486, (520) nm en benceno. Es soluble en metanol, etanol, éter y benceno; ligeramente soluble en éter de petróleo y  $\text{CS}_2$ .

La capsorrubina,  $C_{40}H_{56}O_4$ , presenta los siguientes valores de  $\lambda_{m\acute{a}x}$ , 442, 468, 502 nm en éter de petróleo y 460, 486, 522 nm en benceno.

En la Figura 8.18 se encuentran las estructuras de la capsantina y capsorrubina, en la Figura 8.19 los espectros UV-V e IR de la oleorresina de paprika, así como su cromatograma (HPLC) y en la Figura 8.20 de la paprika en polvo, su oleorresina y una CCD.

En la Tabla 8.3 se señala la composición relativa de carotenoides de dos variedades de paprika así como los valores de  $\lambda_{m\acute{a}x}$  correspondientes.

Obsérvese que la luteína y neoxantina características de los frutos verdes, no se encuentran en los frutos maduros, mientras que otras aparecen cuando los frutos llegan a la madurez, principalmente la capsantina, capsorrubina y capsoluteína; también obsérvese que el contenido total de pigmentos es más alto en la variedad Agri-dulce, aproximadamente 40%, que en la variedad Bola.

### *Formas de Presentación y Aplicaciones*

- *Paprika en polvo*

La paprika o capsicum contiene los carotenoides, capsantina, capsorrubina,  $\beta$ -caroteno y luteína; grasas (9-17%), proteína (12-15%), vitamina A, C, E y otros; su aceite volátil está formado por más de 125 componentes. El principio pungente, capsaicina, puede estar en pequeña concentración, acompañado de nordihidrocapsaicina, homocapsaicina y homodihidrocapsaicina.

- *Oleorresina*

Se obtiene por extracción con un solvente orgánico conveniente, el cual luego es eliminado hasta producir un líquido viscoso.

Se utiliza para dar color a los productos alimenticios, productos de harina (galletas, tortas); gelatinas y pudines, productos cárnicos, condimentos, bebidas alcohólicas y no alcohólicas, etc.

Puede ser utilizado como sustituto de los Amarillos N° 5 y N° 6 (Tartrazina y Sunset Yellow, respectivamente).

Algunas oleorresinas presentan propiedades irritantes por su contenido de capsaicina por lo que se les utiliza en los "sprays" de defensa personal.

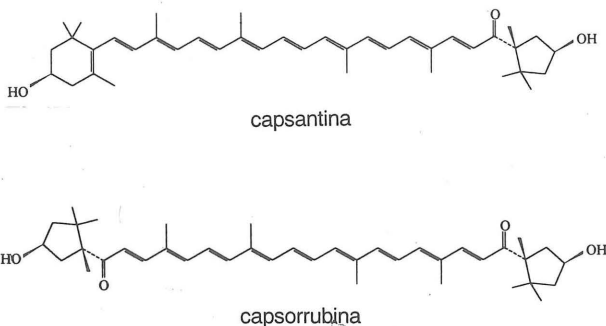


Fig. 8.18 Capsantina y Capsorrubina

**Tabla 8.3.** Composición relativa de carotenoides en dos variedades de *Capsicum annuum* L. (var. Agridulce y var. Bola)\*, y sus valores de  $\lambda_{\text{máx}}$  en éter de petróleo<sup>10</sup>

Pigmento	Concentración**				$\lambda_{\text{máx}}$ , nm éter de petróleo		
	Agridulce		Bola				
	verde	rojo	verde	rojo			
Neoxantina	8,85		8,12		412	436	466
Capsorrubina		78,98		53,44	442	468	502
Violaxantina	7,93	84,17	10,40	52,68	416	468	502
Capsantina 5,6-epóxido		51,56		40,31			
Capsantina		656,47		523,21	466	496	
Anteraxantina		44,08		33,18	424	442	470
cis-Capsantina		72,24		59,38			
Capsoluteína		88,77		68,96	420	444	472
Zeaxantina		99,96		40,30	(422)	448	472
cis-Zeaxantina		7,52		3,47			
Luteína	14,09		7,95		418	442	470
cis-Luteína	0,37		0,71				
$\beta$ -Criptoxantina		76,72		35,59	(424)	448	474
$\beta$ -Caroteno	7,98	99,51	6,23	51,28	(426)	444	470
<b>TOTAL</b>	<b>39,22</b>	<b>1359,98</b>	<b>33,41</b>	<b>961,80</b>			

\* Ambas son utilizadas industrialmente para obtener oleoresina.

\*\* mg/kg fruto fresco.

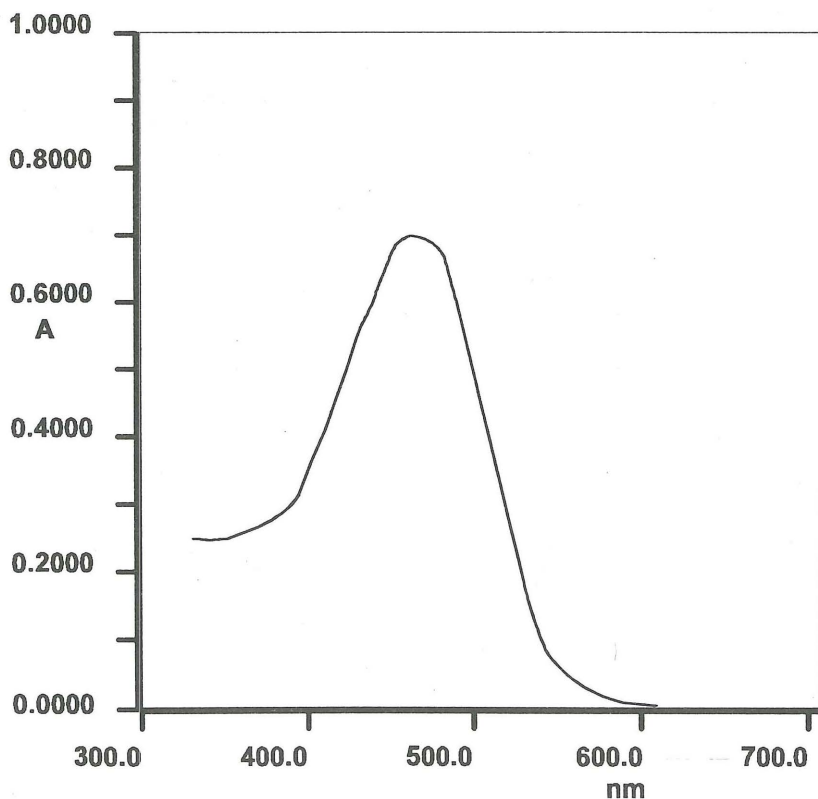
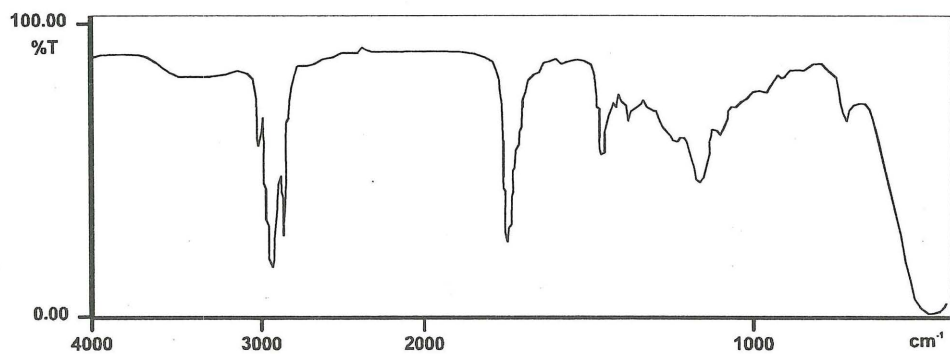
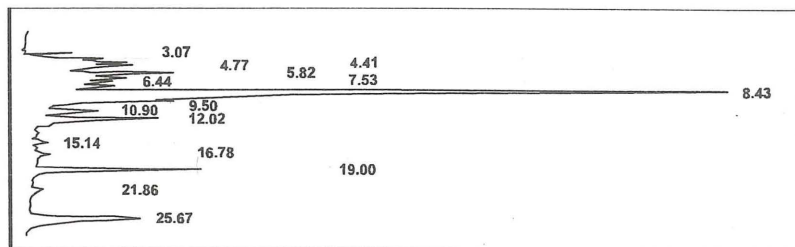


Fig. 8.19 Espectros IR, Vis y cromatograma (HPLC) de la oleoresina de paprika

continúa Fig. 8.19



oleorresina de paprika

Cromatograma HPLC

columna: Ultrasphere ODS, 150 x 4,6 mm, diámetro de partícula 5  $\mu$ m  
 fase móvil: eluyente A: Acetona: metanol (75:25)  
 eluyente B: Acetona: agua (75:25)  
 Programa de gradiente 60 minutos  
 flujo: 1 mL/min  
 $\lambda$  (nm): 460

## 8.8 UVAS (PIEL O CASCARA) Y ANTOCIANINAS<sup>1-3,12</sup>

### Aspectos Generales

La cáscara o piel de la uva, subproducto de la industria vitivinícola, es la fuente más usual aún hoy en día, aunque debemos destacar que tanto el maíz morado como la col morada están alcanzando mucho interés en la actualidad como fuentes de antocianinas.

Aunque las antocianinas (enocianinas) extraídas de las cáscaras (grape skin extracts) es lo más característico, también puede extraerse antocianinas del jugo del fruto (grape colour extracts), particularmente de algunas especies como *Vitis labrusca*, "concord".

En Europa se procesan unas 10000 toneladas de cáscaras de uvas anualmente produciéndose alrededor de 50 toneladas de antocianinas; aunque del consumo mundial de uvas se estima que puede obtenerse unas 10000 toneladas de antocianinas. El mayor productor de enocianina es Italia.

## La Materia Colorante

La especie *Vitis vinifera* contiene antocianinas en la forma de mono- y di-glicósidos de peonidina, malvidina, delfinidina y petunidina. Estas antocianinas son solubles en agua y en mezclas alcohol-agua, produciéndose soluciones de color rojo a magenta a un pH 3. Son sensibles al calor, oxígeno y luz. El extracto contiene además ácidos orgánicos principalmente ácido tartárico, así como taninos, azúcares, aminoácidos y minerales.

Debemos mencionar que dependiendo de la especie del género *Vitis*, se han identificado de 5 a 17 antocianinas. Una relación detallada puede encontrarse en la referencia 12.

La absorptividad del extracto es  $E^{1\%}_{1\text{cm}}$  500 a pH 1,5 al  $\lambda_{\text{máx}}$  cercano a 520 nm.

En la Figura 8.21 se encuentran las estructura de la malvidin-3-O-glucósido, de las uvas, en la Figura 8.22 el espectro Vis del extracto de las cáscaras y en la Figura 8.23 las uvas y su extracto.

## Formas de Presentación y Aplicaciones

- *Extracto líquido de las cáscaras de uvas*

El extracto líquido conteniendo las antocianinas se obtiene de las cáscaras de las uvas utilizando agua acidificada; el extracto inicial se concentra a un líquido viscoso con un pH de 3. La intensidad del color llega hasta 330 unidades.

- *Extracto seco de las cáscaras de uvas*

El extracto viscoso anterior se atomiza utilizando como vehículo la maltodextrina, obteniéndose un polvo higroscópico de color rojo con una intensidad de color de hasta 1275 unidades, y un contenido de antocianina de alrededor de 4%.

Ambos extractos se utilizan en bebidas alcohólicas y no alcohólicas, dulces, caramelos, gelatinas, helados, yogurt y en productos farmacéuticos y cosméticos.

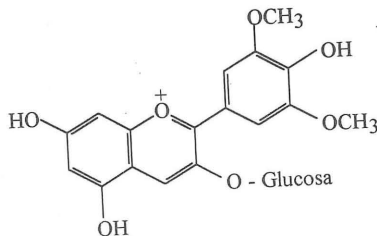


Fig. 8.21 Malvidin-3-O-glucósido

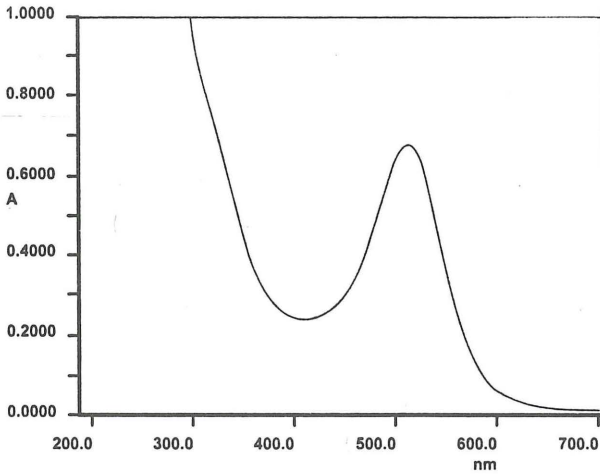


Fig. 8.22 Espectro en el visible del extracto de las cáscaras de uva

## 8.9 MISCELANEOS

### AYRAMPO Y BETANINA<sup>6</sup>

#### Aspectos Generales

El ayrampo o ayrampu es el nombre común de la *Opuntia soeherensii* Britt (familia Cactaceae), es una planta herbácea pequeña, perenne, de tallos o pencas aplanadas, ovoidales; sus frutos son pequeñas bayas carnosas, que cuando están en el periodo de maduración son de color rojizo o vinoso, muy jugosos, de sabor ligeramente dulce, conteniendo muchas semillas ricas en materia colorante.

Los frutos son empleados por los artesanos textiles, para el teñido de fibras de lana; en alimentos sirve para dar color a dulces, mazamorras, refrescos y otros postres.

En el Perú, se le encuentra al estado silvestre en los Andes (Ayacucho, Apurímac, Junín) de donde es originaria.

#### La Materia Colorante

Es la betanina, al igual que en la betarraga *Beta vulgaris*. Las semillas contienen alrededor de 1% del pigmento sobre base seca.

Puede prepararse un extracto acuoso, el que luego de eliminado el solvente por atomización el polvo puede contener entre 4-5% del colorante. Como ya se mencionó la betanina es inestable, los estudios realizados sobre los extractos del ayrampo han demostrado que la estabilidad mayor se encuentra entre pH 4,0 y 5,0, y mejor aún si se almacena en atmósfera de nitrógeno a 4°C y en la oscuridad. El agregado de aditivos antioxidantes, previene en cierto modo la degradación del colorante, habiéndose encontrado mejores resultados con ácido tartárico (0,15%), benzoato de sodio (0,15%), ácido cítrico (0,15%) y galato de propilo (0,01%).

A la fecha el ayrampo sólo tiene un uso artesanal y es una fuente potencial a explotar en el futuro.

En la Figura 8.24 se encuentra el ayrampo y su extracto.

## MAIZ MORADO Y ANTOCIANINAS<sup>9,12</sup>

### *Aspectos Generales*

El maíz es de origen americano; su antigüedad está comprobada por las mazorcas encontradas en las tumbas antequísimas así como las representaciones del maíz en la cerámica precolombina. Se considera que Colón lo llevó a España en su primer viaje, en 1498 se cultivó en Castilla y en Andalucía en 1826. En el Perú existen diversas variedades, entre las mencionadas por Soukup, tenemos el **culli** que tiene granos rojo-oscuro casi morados que se emplea para la chicha morada o como colorante de vianda y la variedad **haña-kaa** (v. aimara), llamada maíz morado.

De acuerdo a las zonas de cultivo se conocen como "maíz centeno", morado de Caraz, "negro de Junín", "Cusco morado", "arequipeño", entre otros; también se cultiva en Ayacucho, Cajamarca y Huancavelica.

### *La Materia Colorante*

Son las antocianinas, de las cuales se han determinado, 3-glucósidos de cianidina, pelargonidina y peonidina, 3-galactósido de cianidina, libres y acilados.

El uso principal desde Antiguo es en la preparación de la chicha morada y mazorra morada; actualmente se preparan extractos acuosos atomizados aunque los volúmenes de producción aún no compiten con las encianinas.

En la Figura 8.25 se encuentran los espectros UV-V e IR del extracto del maíz morado, y en la Figura 8.26 el maíz morado y su extracto.

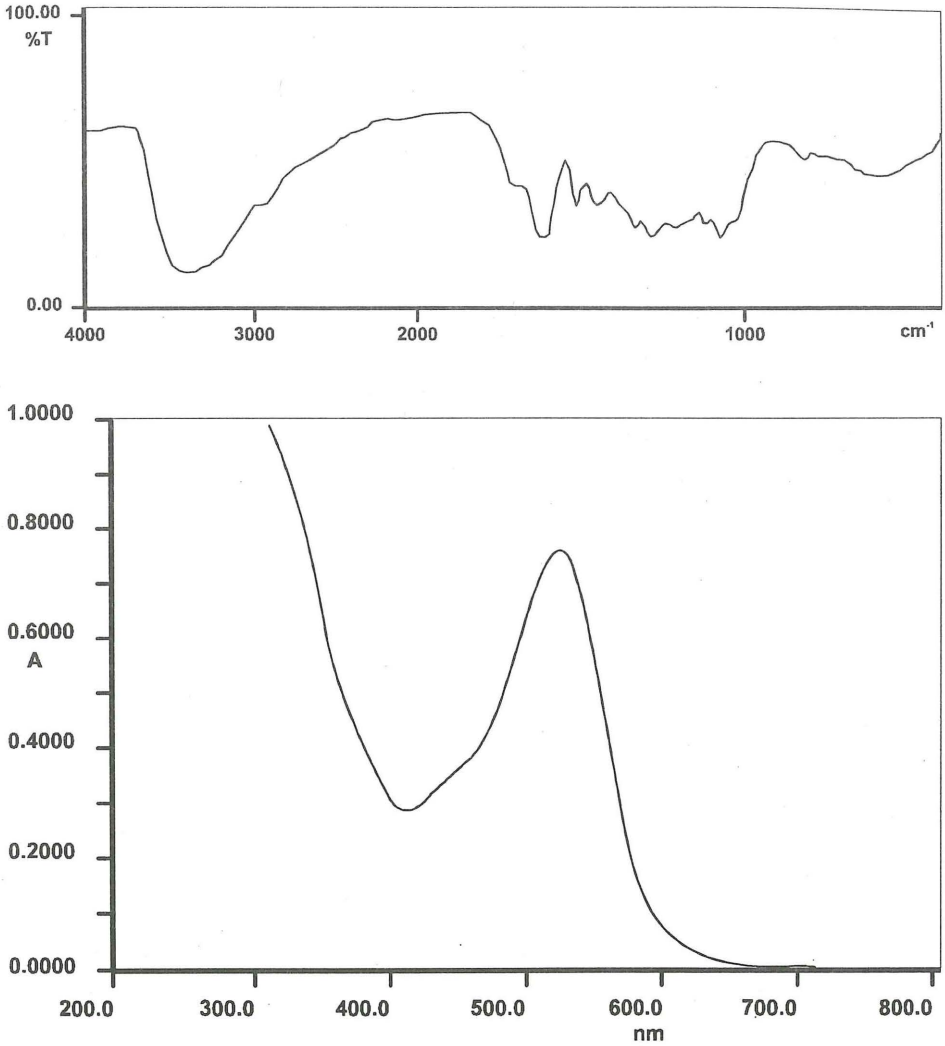


Fig. 8.25 Espectros IR y Vis del extracto del maíz morado

## HOJAS VERDES Y CLOROFILA<sup>13-14</sup>

La clorofila es extraída de un gran número de hojas verdes, principalmente de "grass", ortiga o alfalfa. Su color tiende a ser verde oliva-marrón y de apariencia opaca. El extracto de clorofila contiene aproximadamente 10% de clorofila junto con otros compuestos colorantes, principalmente luteína, así como grasas, ceras y fosfolípidos.

El uso de clorofila como un colorante adicionado a los alimentos es muy limitado debido a su poca estabilidad; se degrada fácilmente en condiciones ácidas perdiendo el átomo de magnesio y produciendo feofitina de color amarillo-marrón.

En los Estados Unidos de Norte América no está permitido el uso de clorofila como ingrediente en alimentos, en cambio si lo está en el Reino Unido, aunque su uso es a pequeña escala.

El reemplazo del átomo de magnesio central por un átomo de cobre produce un complejo más estable con mayor poder tintóreo, se le conoce como clorofila-cobre. La remoción de la cadena de fitol por hidrólisis con álcali diluido produce un compuesto soluble en agua llamado clorofilina-cobre; este complejo en forma de sal de sodio o potasio es preparado a partir del "grass" y la alfalfa, y es ampliamente utilizado como colorante de alimentos en Europa, aunque en EUA su uso está limitado a productos dentífricos. Ambos, clorofila-cobre y clorofilina-cobre, no son considerados naturales por estar químicamente modificados.

### 8.10 COMPORTAMIENTO DE LOS COLORANTES NATURALES FRENTE A LOS REACTIVOS COMUNES<sup>15,16</sup>

Además de las características dadas en las Secciones anteriores que permiten una diferenciación entre los colorantes naturales hay ciertos cambios de color producidos por diversos reactivos que pueden ser útiles para su reconocimiento además de los incluidos en la Tabla 8.4.

#### *Detección de Colorantes Naturales*

##### *Clorofila*

- extraer la muestra con éter etílico o éter de petróleo;
- agregar al extracto un pequeño volumen de KOH al 10% en metanol;
- hay reacción (+), si aparece coloración parduzca que pasa rápidamente, de nuevo, a verde.

### *Annatto*

- tratar la muestra con NaOH al 2% en caliente;
- verter unas gotas sobre papel de filtro húmedo;
- si se trata de annatto, el papel absorbe el color y no lo pierde con un chorro de agua;
- secar el papel, añadir 1 gota de solución de  $\text{SnCl}_2$  al 40%, secar;
- hay reacción (+), si el papel adquiere color púrpura.

### *Cúrcuma*

- tratar la solución acuosa o alcohólica diluída del colorante, con HCl hasta que adquiera un color naranja pálido y realizar uno de los dos ensayos siguientes:
- sumergir un papel de filtro en la disolución, retirar y secar a 100°C; humedecer nuevamente con solución diluída de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (conteniendo gotas de HCl); volver a secar, si hay reacción (+) el papel adquiere color rojo cereza; o
- añadir a la disolución inicial,  $\text{H}_3\text{BO}_3$  (en polvo o en cristal), la reacción es (+) si la coloración se intensifica a rojo más intenso.

### *Cochinilla*

- acidificar la disolución con 1/3 de su volumen con HCl y extraer con alcohol isoamílico;
- lavar el extracto de alcohol isoamílico, 2 a 4 veces con volúmenes iguales de agua para eliminar el HCl;
- diluir con 1 a 2 veces en volumen con éter de petróleo y tratar de 2 a 3 veces con pequeños volúmenes de agua para extraer el colorante;
- dividir el extracto acuoso en dos partes:
  - añadir de 1 a 2 gotas de  $\text{NH}_4\text{OH}$ , la reacción es (+) si adquiere color violeta, y
  - añadir gota a gota disolución de acetato de uranilo, agitando cada vez, la reacción es (+) si la solución adquiere color verde esmeralda.

*Nota: si la solución es ácida, hay interferencia, por ello se debe neutralizar con solución de acetato de sodio.*

**Tabla 8.4.** Comportamiento de los colorantes naturales frente a los reactivos comunes<sup>16</sup>

Colorante	HCl	NaOH 10%	FeCl <sub>3</sub> 0,5%	Alumbre 10%	H <sub>2</sub> S
antocianinas (de las frutas de color rojo)		adquiere color verde, azul mate o tonalidades gris azulado o verdoso			
cochinilla	no se modifica el color		ligeramente más oscuro		
annatto	mantiene el color naranja		no se producen cambios		azul
cúrcuma	rojo naranja o rojo carmín, al añadir varios volúmenes de ácido concentrado se tornan intensamente amarillos con 2-4 volúmenes de ácido concentrado	naranja-pardo	no se producen cambios notorios	apenas se altera	rojo
flavonas		amarillo brillante	verde oliva o negro	amarillo mas intenso	de amar naranja
azafrán	apenas varía	permanece amarillo	no se producen cambios notorios	apenas varía	azul
caroteno y xantófila	apenas varía	poco afectado			azul
clorofila	más parduzca				

## 8.11 EXPORTACIONES PERUANAS DE COLORANTES NATURALES

El Perú ocupa un lugar expectante en la producción, comercialización y exportación de colorantes naturales, especialmente de cochinilla y de achiote, siendo el primer exportador a nivel mundial de cochinilla con cerca de 28 millones de dólares (El Comercio, Sección E, 6 de enero de 1997).

La promoción de los colorantes naturales en el Perú se hace a través de seminarios y cursos organizados por las universidades, la Asociación de Exportadores (ADEX), y la Asociación Nacional de Colorantes Naturales (ANCN). Esta última publica boletines informativos periódicos<sup>17</sup>.

Se organizan también otros eventos como la Feria Internacional de Tuna y Cochinilla, cuya primera versión tuvo lugar en febrero de 1996 y la segunda del 31 de enero al 2 de febrero de 1997, ambas en Ayacucho (Región Agraria Los Libertadores Wari).

Sin embargo, es conveniente realizar mayores esfuerzos, tanto en: a) el sector agrario, para que los agricultores cuenten con un suficiente grado de tecnificación, y b) el aspecto científico y tecnológico, investigando nuevas fuentes de colorantes y su aprovechamiento industrial.

A continuación se incluyen cuadros estadísticos de exportación de colorantes naturales. En la Tabla 8.5 se señalan las exportaciones de materias primas y sus colorantes en millones de dólares USA en el año 1994; en las Tablas 8.6 y 8.7, los porcentajes de exportación de los mismos así como los volúmenes y valor en dólares USA; la Tabla 8.8 contiene las cotizaciones internacionales en 1996 para la cochinilla, carmín y ácido carmínico, achiote y bixina, palillo, y harina de marigold. Las Tablas 8.9 y 8.10 se refieren a las exportaciones de cochinilla y carmín, la Tabla 8.11 a las de cúrcuma y la Tabla 8.12 a las de la harina de flores de marigold.

Debemos mencionar que algunos valores reportados en las diferentes referencias bibliográficas no son concordantes.

**Tabla 8.5.** Exportaciones en millones de US\$ de materias primas y sus colorantes durante el año 1994

Exportaciones 1994	Millones US\$
cochinilla	2,5
carmín	10,5
semilla de achiote	2,7
extracto de achiote	3,4
curcumina	0,4
extracto de curcumina	0,04
harina de marigold	19,0
extracto de harina de marigold	0,4
extracto de maíz morado	0,2

Fuente: Seminario Colorantes Naturales, ADEX, 1995.

**Tabla 8.6.** Estructura de las exportaciones peruanas de colorantes naturales

Productos	1991 %	1992 %	Variación %
harina de flores de marigold	30,4	45,7	15,3
carmín	37,3	30,1	-7,2
cochinilla	15,0	12,3	-2,7
bixina	11,0	4,7	-6,3
achiote	3,9	5,3	1,4
cúrcuma	1,3	1,7	0,4
maíz morado	1,1	0,2	—
Total	100	100	

Fuente: Asociación Nacional de Colorantes Naturales, Boletín Anual 1992.

**Tabla 8.7.** Exportaciones peruanas de colorantes naturales

Productos	Cantidad (TM)			Valor (US\$ miles)			Precio (US\$/Kg)		
	1991	1992	Variación %	1991	1992	Variación %	1991	1992	Variación %
harina de flores de marigol	3837	5056	32	5632	11656	107	1,47	2,31	57
carmín	60	75	25	6951	7669	10	116,16	102,37	-12
cochinilla	161	194	21	2729	3113	14	16,98	16,07	-5
bixina	93	45	-52	2047	1168	-43	22,04	26,14	19
achiote	1200	1731	44	727	1320	82	0,61	0,76	24
cúrcuma	184	342	86	245	404	65	1,33	1,18	-11
maíz morado	104	137	32	207	300	45	1,99	2,19	10
Total	5639	7580	34	18538	25630	38			

Fuente: Asociación Nacional de Colorantes Naturales, Boletín Anual 1992.

**Tabla 8.8.** Colorantes Naturales: Cotizaciones Internacionales

Productos	Precio US\$/Kg/FOB		
	Julio'96	Agosto'96	Setiembre'96
– Cochinilla	82/87	92/94	92/93
– Carmín (Uso alimenticio)			
52% de ácido carmínico	360/380	400/410	390/430
– Acido carmínico (95%)	800/850	850/900	750/800
– Semilla de Achiote			
Perú	1,45/1,55	1,23/1,27	1,25/1,30
Kenya	1,40/1,45	1,25/1,30	1,10/1,15
Guatemala	1,30/1,40	1,20/1,25	1,15/1,20
– Bixina/Norbixina			
Kenya (35%)	49,00/50,75	43,75	45,50
Kenya (40%)	56,00/58,00	52,00	52,00
Guatemala (35%)	45,50/49,00	42,00	48,00
Guatemala (40%)	52,00/56,00	48,00	54,00
Perú (35%)	50,75/54,25	43,05	52,50
Perú (40%)	58,00/62,00	50,00	60,00
– Palillo cúrcuma			
India 5% curcumina	0,93/1,00	0,93/1,00	0,90/1,00
India 5,5% a 6% curcumina	1,00/1,10	1,00/1,10	1,00/1,10
Perú 3 a 5% curcumina	0,75/0,97	0,90	0,85
– Harina de marigold (15%)	1,50/2,25	1,50/2,00	1,50/2,00

Fuente: Ministerio de Agricultura, Boletín Cotizaciones Internacionales, Informe Semanal, Vol. 2, N° 49, del 02 al 06 de diciembre 1996.

**Tabla 8.9.** Exportaciones anuales de cochinilla, carmín y de ácido carmínico

Año	Cochinilla (TM)	Carmín (TM)	Acido Carmínico (TM)
1992	100	6	54
1993	97	227	32
1994	160	170	91
1995	231	577	76

Fuente: Seminario Colorantes Naturales, Adex, 1995.

**Tabla 8.10.** Exportaciones peruanas de cochinilla por países (1990-91-92)

País	Ene-Dic 92 (kg)	%	Ene-Dic 91 (kg)	%	Ene-Dic 90 (kg)	%
Alemania	41500	21,53	41849	26,04	46000	24,37
Francia	16450	8,53	23750	14,78	19890	10,54
Bélgica	10000	5,19	18500	11,51	8000	4,24
Japón	36800	19,09	17750	11,04	71100	37,67
Italia	20250	10,51	16950	10,55	13000	6,89
España	34500	17,90	10500	6,53	14500	7,68
Argentina	13000	6,74	10320	6,42	2390	1,27
Corea	9000	4,67	6500	4,04	6520	3,45
EE.UU	0	0,00	5450	3,39	50	0,03
Irlanda	100	0,05	5380	3,35	0	0,00
Inglaterra	350	0,18	3225	2,01	5900	3,13
Suiza	10700	5,55	500	0,31	500	0,26
Brasil	100	0,05	50	0,03	600	0,32
Australia	0	0,00	0	0,00	180	0,10
México	0	0,00	0	0,00	100	0,05
Total	192750	100	160724	100	188730	100

Fuente: Revista TecnoEmpresa oct./nov. 1993, N° 15.

**Tabla 8.11.** Exportaciones peruanas de cúrcuma

País	Ene-Dic 92 (kg)	%	Ene-Dic 91 (kg)	%
Argentina	112316.00	33	84964.00	46
EE.UU	91898.30	27	0.00	0
Chile	91613.00	27	39910.00	22
Venezuela	22390.00	7	19316.00	10
Alemania	10200.00	3	0.00	0
España	10010.00	3	16064.00	9
Uruguay	3120.00	1	0.00	0
Inglaterra	0.00	0	9027.00	5
Portugal	0.00	0	6560.00	4
Holanda	0.00	0	5100.00	3
Colombia	0.00	0	3060.00	2
Italia	0.00	0	50.00	0
<b>Total</b>	<b>341547.30</b>	<b>100</b>	<b>184051.00</b>	<b>100</b>

Fuente: Revista TecnoEmpresa oct./nov. 1993, N° 15.

**Tabla 8.12.** Exportaciones peruanas de harina de flores de marigold

Año	US\$ FOB	kg
1991	5,122,451	3,653,467
1992	9,024,080	3,863,977
1993	19,473,874	9,821,964
1994	19,283,901	11,237,912
1995	13,827,108	8,797,918

Fuente: Elaborada por la autora de diversas fuentes.

Países compradores: México (principalmente), España, EUA, Italia

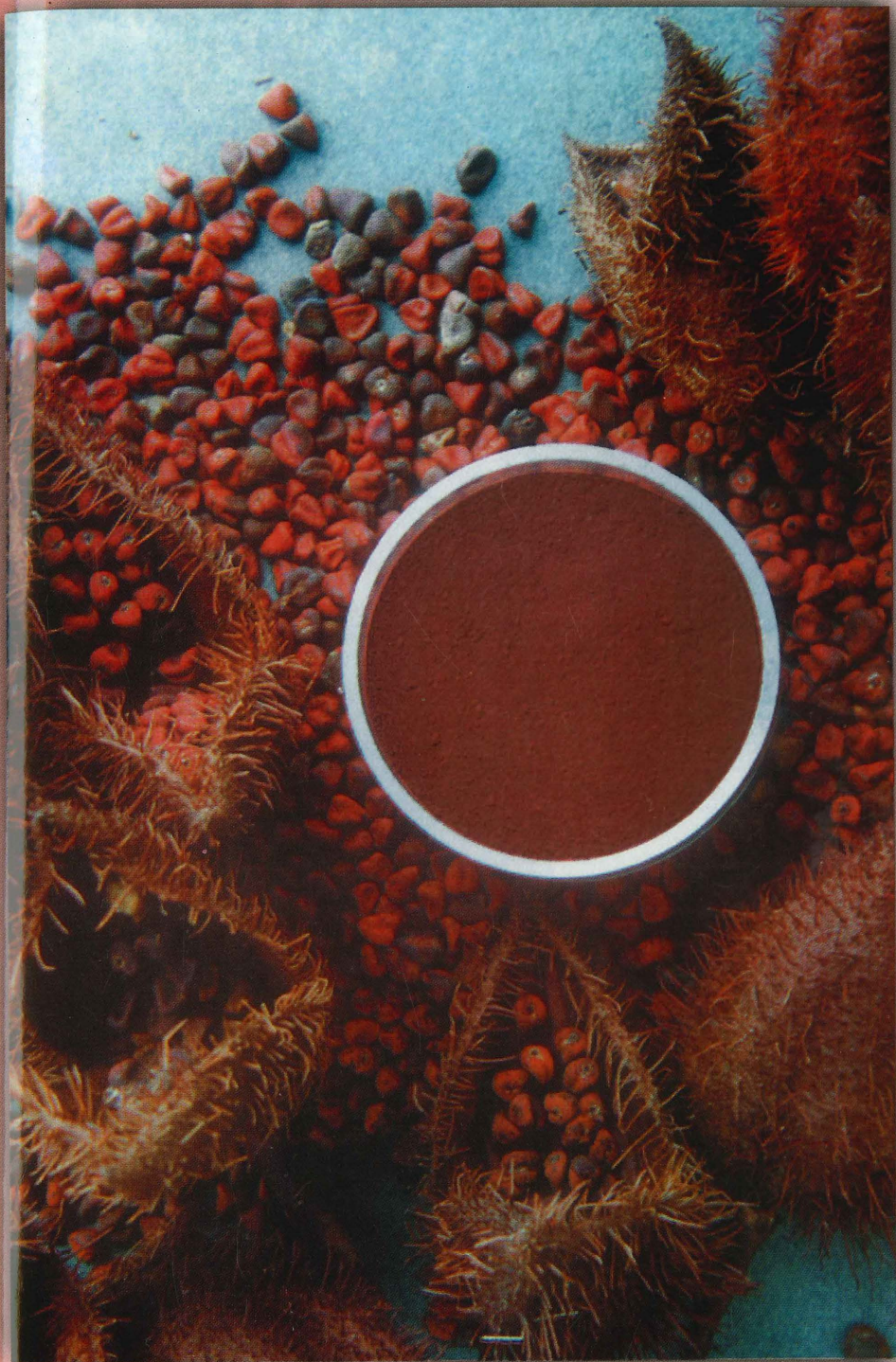


Fig. 8.3 Semillas de achiote y su extracto



Fig. 8.5 Flores de Azafrán y su extracto. Cromatografía de capa delgada del extracto

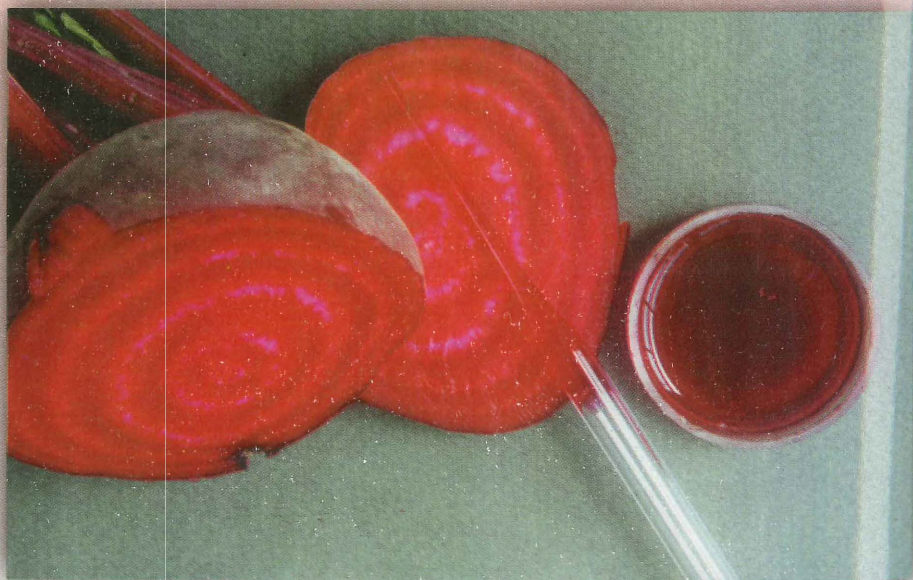


Fig. 8.8 Betarraga y su extracto



Fig. 8.11a Cochinilla y su cactus hospedero





Fig. 8.14 Flores de marigold



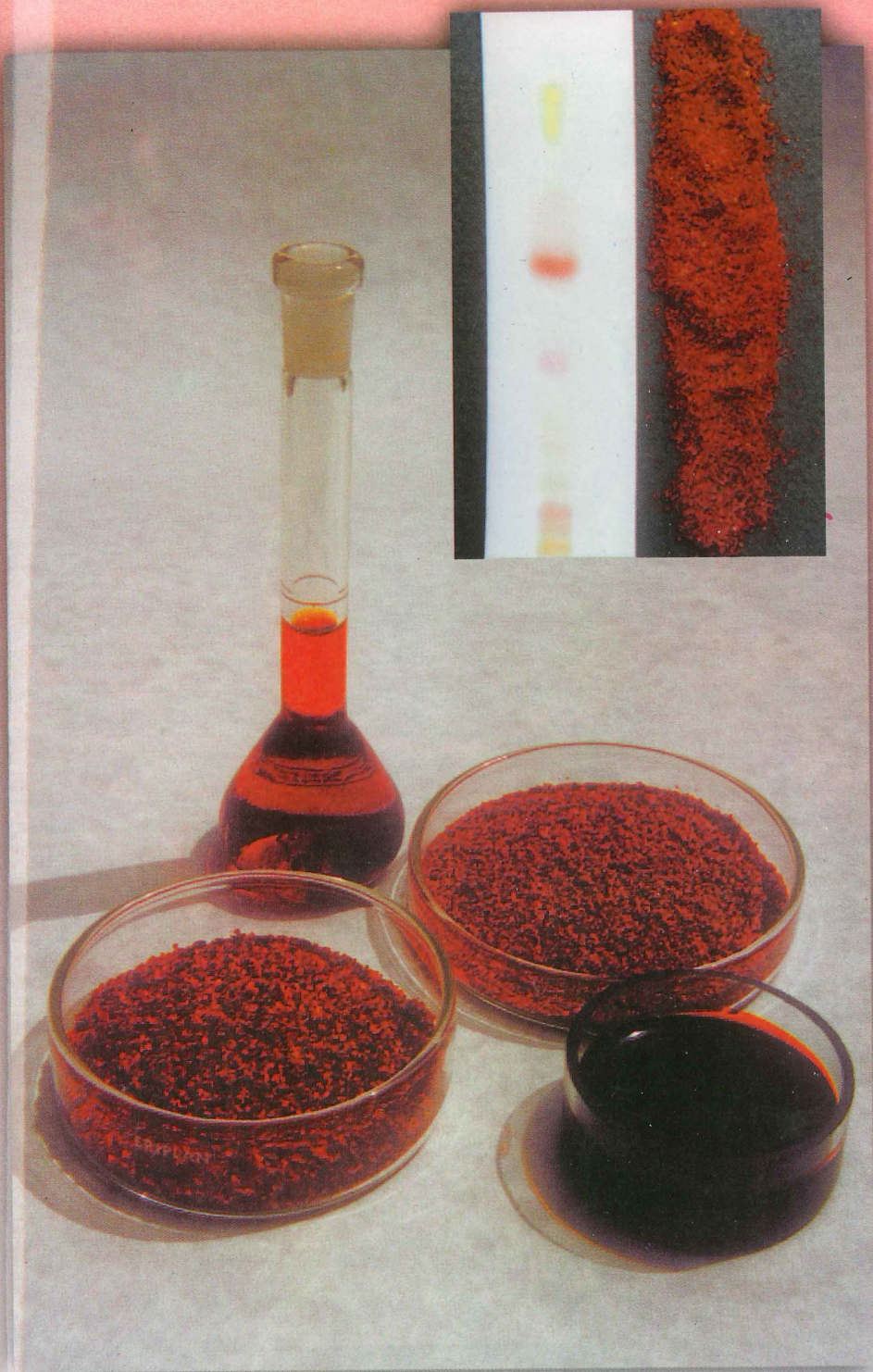


Fig. 8.20 Paprika en polvo, oleorresina y CCD de la oleorresina



Fig. 8.23 Uvas y su extracto



Fig. 8.24 Ayrampo y su extracto



Fig. 8.26 Maíz morado y su extracto



## REFERENCIAS

1. Henry, B.S. (1992) Natural Food Colors. En *Natural Food Colorants* (Hendry, G.A.F, Houghton, J.D., eds.). Blackie, Glasgow.
2. The Merck Index (1983). Ed. Merck & Co Inc. N.J.
3. Leung, A.Y. (1980) *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*. Wiley Interscience, N.Y.
4. Biocon US (Inc) Fichas Técnicas.
5. Preston, H.D., Richard, M.D. (1980) Extraction and Chemistry of Annatto. *Food Chemistry*, 5, 47-56.
6. Tipe, O., Lock de Ugaz, O. (1990) Estudio de la Estabilidad del Extracto de Ayrampo (*Opuntia soehereusii* Britt) y de la Betanina. *Bol. Soc. Quim. del Perú*, 56, 27-45.
7. Quackenbush, F.W., Miller, S.L. (1972) Vitamins and Other Nutrients. Composition and Analysis of the Carotenoids in Marigold Plants. *J. of the AOAC*, 55, 617-618.
8. Normas Técnicas, Palillo ITINTEC, INDECOPI.
9. Soukup, J. (1987) *Nombres Vulgares de la Flora Peruana*, Ed. Salesianos, Lima-Perú.
10. Minguez-Mosquera, M.I., Hornero-Mendez, D. (1993) Separation and Quantification of the Carotenoid Pigments in Red Peppers (*Capsicum annum* L.), paprika and oleoresin by Reversed-Phase HPLC. *J. Agric. Food. Chem.*, 41, 1616-1620.
11. Plaza, A., Lock de Ugaz, O. Resultados no publicados.
12. Riberán-Gayon, P. (1982) The Anthocyanins of Grapes and Wines. En *Anthocyanins as Food Color* (Markakis, P., ed.). Academic Press, N.Y.
13. Hendry, G.A.F. (1992) Chlorophylls and Chlorophyll Derivatives. En *Natural Food Colorants* (Hendry, G.A.F and Houghton, J.D. eds.). Blackie, N.Y., p. 79-102.
14. Harborne, J. (1980) *Phytochemical Methods*. Chapman and Hall, London.
15. Jackson, A.H. (1976) Structure, Properties and Distribution of Chlorophylls. En *Chemistry and Biochemistry of Plants Pigments* (T.W. Goodwin ed.). Academic Press, London, p. 1-57.
16. Hart, F.L., Fisher, H.J. (1971) *Análisis Moderno de Alimentos*. Ed. Acribia, España.
17. Boletines de la Asociación Nacional de Colorantes. (Año 1, N° 3, nov. 1990), (Año 2, N° 7, ago. 1991), (Año 2, N° 8, nov. 1991).



## Capítulo IX

# TEÑIDO DE FIBRAS CON COLORANTES NATURALES

### 9.1 INTRODUCCION

En los momentos actuales el mundo se ve invadido por la onda ecológica; no hay duda que la ecología o protección del medio ambiente está cambiando muchos patrones de comportamiento incluyendo las corrientes de la moda, y así se habla de la “ecología en el vestir”, o de los “ecotextiles”. En esta “moda ecológica” se contempla, entre otros requisitos, el teñido con tintes naturales, como lo hicieran nuestros antepasados.

Aunque el teñido de fibras con las llamadas plantas tintóreas no ha alcanzado la importancia económica que tienen los colorantes naturales para alimentos, he considerado de interés la inclusión de este Capítulo, que contiene la:

1. Relación de especies vegetales utilizadas en el teñido de fibras.
2. Tecnología de tinción.
3. Composición química de algunas especies utilizadas en el teñido de fibras.

### 9.2 RELACION DE ESPECIES VEGETALES UTILIZADAS EN EL TEÑIDO DE FIBRAS

La Tabla 9.1 presenta una relación de especies utilizadas en el teñido de fibras, debe mencionarse que:

- la información cubre 145 plantas utilizadas en diferentes zonas geográficas del país\*, 1-8;
- algunas plantas son utilizadas en más de una de las zonas geográficas, siendo posible que existan diferencias en los colores obtenidos, las que pueden deberse al mordiente utilizado, al método de tinción y obviamente a la parte de la planta utilizada.

### 9.3 TECNOLOGIA DE TINCION

El teñido de la fibra de lana (oveja, alpaca) comprende dos etapas: (1) preparación de la lana, (2) proceso de tinción, lavado y secado de la lana<sup>1-3,9</sup>; aunque el proceso de tinción puede sufrir variaciones por la propia experiencia del "tintorero".

#### (1) Preparación de la lana:

La lana se prepara hirviéndola con agua, para eliminar la suciedad, enjuagándola luego repetidas veces con agua fría.

#### (2) Proceso de tinción:

Se realiza utilizando los siguientes métodos:

- Método directo en (i) agua fría
- (ii) agua caliente

Método indirecto, con mordiente

- *Método directo en agua fría*
  - se prepara el baño de tintura, remojando la planta en agua fría durante unas horas hasta obtener el color deseado;
  - se separa la planta del líquido tintóreo;
  - se coloca la lana en el líquido tintóreo por el tiempo necesario hasta que la fibra tenga el color deseado; y
  - se enjuaga la lana en agua fría y se seca.

---

\* Parte de la información ha sido proporcionada por la Prof. R. Urrunaga de la UNSAAC, a quien agradecemos por ser un material aún no publicado.

**Tabla 9.1.** Especies utilizadas en el teñido de fibras<sup>1-8</sup>

<b>Especie/Familia</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Parte utilizada</b>	<b>Color obtenido</b>	<b>Mordiente*</b>
<i>Acacia macrocartha</i> Humb & Bonpl. / Mimosaceae	huarango	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Acalipha macrostachya</i> Jacq. / Euphorbiaceae	yana-vara, pispita	tallo	negro	
<i>Acca lanuginosa</i> R.et.P. / Rosaceae	pacra, manzanita silvestre	frutos maduros	rojo y naranja	sulfato de aluminio
<i>Allium cepa</i> L. / Liliaceae	cebolla	cáscaras externas coloreadas	amarillo aceituna oscuro	sulfato de aluminio 1° bicromato de potasio 2° sulfato de aluminio
<i>Alnus jorullensis</i> H.B.K. / Betulaceae	aliso de los andes	hojas y ramas tiernas	amarillo verde	sulfato de aluminio sulfato de cobre
<i>Amaranthus caudatus</i> L. / Amaranthaceae	kihuicha	partes aéreas	carmin	
<i>Amaranthus hybridus</i> L. / Amaranthaceae	ataqu, atakco	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Baccharis genistelloides</i> Pers. / Asteraceae	kimsa kucho	hojas	verde	sulfato de cobre
<i>Baccharis lanceolata</i> Kunth / Asteraceae sin. <i>B. salicifolia</i> R.et.P.	chilca	hojas y ramas tiernas	amarillo verde	sulfato de aluminio sulfato de cobre
<i>Baccharis</i> spp. (varias especies) / Asteraceae	taya blanca	hojas y ramas tiernas	verde	sulfato de cobre
<i>Bactris gasipaes</i> H.B.K. / Palmaceae	pijuayo	hojas		

\* Se ha señalado como mordientes, alumbre y sulfato de aluminio, tal como lo reportan los autores. Debe mencionarse que el alumbre es un sulfato doble de aluminio y de un metal monovalente o de un radical como amonio, que cristaliza con 24 moléculas de agua; y que al sulfato de aluminio se le llama incorrectamente alumbre concentrado. En algunos casos no se ha colocado el mordiente, por no estar reportado en las referencias utilizadas.

<i>Berberis boliviana</i> Lechl. / Berberidaceae	checche	fruto raíz, tallo	plomo amarillo	
<i>Berberis flexuosa</i> R.et.P. / Berberidaceae	ayrampito, chiqchi	corteza de tallos y raíces frutos morados	amarillo violeta - morado	sulfato de aluminio alumbre
<i>Berberis lutea</i> R.&P. / Berberidaceae	espino-amarillo, checche	ramas hojas	amarillo verde	
<i>Berberis vulgaris</i> L. / Berberidaceae	agracejo	raíces o corteza	amarillo	alumbre
<i>Bidens andicola</i> H.B.K. / Asteraceae	amor seco, sillkaw de puna	toda la planta	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Bidens pilosa</i> L. / Asteraceae	amor seco, sillkaw	toda la planta	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Bixa orellana</i> L. / Bixaceae	achiote	semilla	anaranjado	alumbre o bicromato de potasio
<i>Bocconia integrifolia</i> H.&B. / Papaveraceae	pincullo	corteza	amarillo a anaranjado	
<i>Bougainvillea pachyphylla</i> Heimerl / Nyctaginaceae	papelillo	ramas y hojas	marrón	
<i>Buddleia coriacea</i> Remy / Buddlejaceae	colli o kiswar	inflorescencia anaranjada	rojo y naranja	sulfato de aluminio
<i>Buddleia longifolia</i> H.B.K. / Buddlejaceae	quishuar	inflorescencia	amarillo	
<i>Caesalpinia coriaria</i> Willdenow / Leguminosae	divi divi	frutos		
<i>Caesalpinia paipai</i> R.et.P. / Leguminosae	charan, paipai	frutos	negro	

<i>Caesalpinia spinosa</i> (Mol) Kuntze / Leguminosae	tara	frutos, hojas, ramas tiernas	azul grisáceo gris a negro	sulfato de hierro
<i>Calceolaria deflexa</i> R.&P. / Schrophularaceae	ayac-zapatito	flores	amarillo	
<i>Calceolaria lineris</i> R.et.P. / Schrophularaceae	wawillay, romero silvestre	hojas, ramas tiernas y flores	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Calceolaria pinnata</i> R.&P. / Schrophularaceae	ayac, zapatito	flores	amarillo	
<i>Calceolaria speciosa</i> Pennell / Schrophularaceae	zapatito de muerto	hojas, ramas tiernas y flores	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Calendula officinalis</i> L. / Asteraceae	calendula, chunchita	flores	amarillo	alumbre
<i>Canna edulis</i> Ker. / Cannaceae	achira	semillas secas	rojo y naranja	sulfato de aluminio
<i>Cassia hoockeriana</i> Gilb. / Leguminosae	mutuy, muchas cassia	hojas y ramas tiernas	verde	sulfato de cobre
<i>Cassia lateopetiolata</i> Dombey / Leguminosae	mutuy	flores, hojas corteza	amarillo beige	
<i>Cedrella fissilis</i> Vell / Meliaceae	cedro	corteza	beige	
<i>Cestrum hediodinum</i> Dun. / Solanaceae	hierba santa	frutos baya	azul	alumbre
<i>Clorophora tinctoria</i> L. Gaud / Moraceae	insira, insira caspi	madera, latex	amarillo, verde oliva	
<i>Colletia spinosa</i> Gmelin / Ramnaceae	roque, puyukasha	corteza	amarillo	
<i>Coreopsis senaria</i> Blake & Sherff / Asteraceae	pull	flores	amarillo	
<i>Coreopsis</i> sp. / Asteraceae	pahuau, panau	flor y hojas	naranja	alumbre
<i>Coriaria ruscifolia</i> L. / Coriariaceae	mio-mio	frutos	color casi negro	

<i>Curcuma longa</i> L. / Zingiberaceae	palillo, curcuma	raíz	marrón dorado	sulfato de hierro
<i>Cybistax antisiphilitica</i> / Bignoniaceae	achihua, llangua	hojas	azul	
<i>Cybistax quinquefolia</i> (Vell.) Macbr. / Bignoniaceae	achihua - achihua llangua	hojas	azul negro	
<i>Cynara scolymus</i> L. / Asteraceae	alcachofa	hojas	verde	sulfato de cobre
<i>Chenopodium ambrosioides</i> L. / Chenopodiaceae	paico	hojas	amarillo	
<i>Chenopodium murale</i> L. / Chenopodiaceae	hierba del gallinazo	hojas y tallos	verde	sulfato de cobre
<i>Chenopodium quinoa</i> Willd / Chenopodiaceae	quinua	panoja	amarillo-anaranjado	
<i>Dactilopius coccus costa</i> *	cochinilla	cuerpo del insecto hembra	morado oscuro diversos tonos de rojo	sulfato de cobre alumbre o cloruro de estaño
<i>Daphnopsis weberbaueri</i> Domke / Timelaceae	cholito	hojas y corteza de tallo	amarillo y marrón claro	
<i>Daucus carota</i> L. / Apiaceae	zanahoria	tallos y hojas verdes	amarillo	alumbre
<i>Datura stramonium</i> L. / Solanaceae	chamico	hojas y ramas tiernas	verde	sulfato de cobre
<i>Ephedra americana</i> H.&B. / Ephedraceae	pinco-pinco	raíz	champaña	
<i>Ephedra torreyana</i> / Ephedraceae	pinco - pinco	tallos tiernos	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Erythryna cristagalli</i> L. / Fabaceae	pisonay	corteza	beige	

\* Insecto

<i>Erythrina edulis</i> Triana / Fabaceae	basul	corteza	beige	
<i>Erythroxylum paraense</i> Peyr / Eritroxilaceae	puca llaja	hojas	verde	
<i>Escallonia resinosa</i> R.et.P. Pers. / Saxifragaceae	chachacuma	hojas	encarnado y morado	
<i>Eucalyptus globulus</i> Labill / Myrtaceae	eucalipto	hojas y ramas tiernas	verde	sulfato de cobre
<i>Eugenia riparis</i> D.C. / Myrtaceae	carapacho, raupíña	frutos		
<i>Ficus carica</i> L. / Moraceae	higuera común. higo	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Flaveria bidentis</i> / Asteraceae		hojas	amarillo	
<i>Foeniculum vulgare</i> Mill / Umbelliferae	hinojo	hojas y tallos	verde	sulfato de cobre
<i>Fourcroya andina</i> Trel. / Agavaceae	pajpa, cabuya	hojas	marrón	
<i>Fuchsia macrostema</i> R.et.P. / Onagraceae		todo	negro, gris	
<i>Galium aparine</i> L. / Rubiaceae	chapi	fruto	rojo	
<i>Genipa americana</i> L. / Rubiaceae	acuisho-ana, huitoc	frutos	azul negro	
<i>Genipa oblongifolia</i> R.&P. / Rubiaceae	huitoc	fruto y corteza	negro	
<i>Genista tinctoria</i> L. / Fabaceae	retama	flores	amarillo vivo verde	alumbre 1º alumbre 2º sulfato de cobre
<i>Guarea purpurea</i> C.D.C. / Meliaceae	yecheñor		morado	
<i>Hedera helix</i> L. / Araliaceae	hiedra	hojas y bayas	verde gris	bicromato de potasio

<i>Hypericum laricifolius</i> Juss / Clusiaceae	chinchango	hojas y flores	amarillo a anaranjado	
<i>Inga feuillei</i> D.C. / Mimosaceae	pacae	hojas y ramas tiernas	verde	sulfato de cobre
<i>Indigofera añil</i> L. / Fabaceae	añil o índigo	hojas frescas	azul	
<i>Indigofera suffruticosa</i> Mill. / Fabaceae	índigo mutui	hojas	azul	
<i>Indigofera tinctoria</i> L. / Fabaceae	añil	hojas	azul	
<i>Indigofera truxillensis</i> H.B.K. / Fabaceae	añil - añil	hojas	azul	
<i>Iris germanica</i> L. / Iridaceae	lirio	hojas	amarillo	
<i>Juglans neotropica</i> Diels. / Juglandaceae	nogal peruano	hojas, ramas, frutos inmaduros y corteza de tallo	marrón - caoba	sulfato de cobre
<i>Kageneckia lanceolata</i> R.et.P. / Rosaceae	lloqi	hojas y ramas tiernas	azul grisáceo gris a negro	sales de hierro
<i>Krameria triandra</i> R.&P. / Krameriaceae	pachalloqe	raíz ramas	pardo anaranjado	
<i>Lawsonia inermis</i> L. / Litraceae	henna	hojas	marrón dorado	alumbre
<i>Lepechinia meyenii</i> (Walp) Epl. / Lamiaceae	puna salvia pasa salvia (cerr.)	todo	amarillo	
<i>Lepidium chichicara</i> Desv. / Brassicaceae	chichicara	toda la planta	verde	sulfato de cobre
<i>Lepidophyllum quadrangulare</i> (Meyen) Benth & Hook / Asteraceae	tola	todo	amarillo, kaki, verde	
<i>Lepidophyllum tola</i> / Asteraceae	tola	todo	amarillo	

Lupinus aridulus C.P.Smith / Fabaceae	q'era	flor	amarillo	
Lupinus paniculatus Desr. / Fabaceae	q'era	todo	amarillo	
Malpighia glabra L. / Malpighiaceae	cerezo, barbados cherry	madera	encarnado	
Marrubium vulgare L. / Labiatae o Lamiaceae	uqi-qura, hierba gris	hojas y tallos tiernos	amarillo	sulfato de aluminio
Miconia chrysophylla (L.C.Rich.) Urb. / Melastomataceae	puca mullaca		pardusco	
Minthostachys mollis (Kunth) Griseb / Lamiaceae (Labiatae)	muña	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
Mirabilis jalapa L. / Nyctaginaceae	buenas tardes, don Diego de noche	hojas, ramas y flores amarillas flores azules	amarillo azul	sulfato de aluminio
Morus nigra L. / Moraceae	mora	hojas	amarillo verdoso	1° alumbre 2° sulfato de cobre
Monnina salicifolia R.et.P. / Polygalaceae	tuta wiña, pichucha	flores y frutas	azul	alumbre
Muehlenbeckia hastulata (Smith) Standl. / Polygonaceae	mullaca, huano negro	raíz y tallo	azul	
Muehlenbeckia volcánica (Benth) Endl. / Polygonaceae	mullaca, bejuquillo	frutos	azul	
Murraya paniculata (L.) Jack / Rutaceae	naranjillo	flores	negro	
Mutisia viciaefolius Cav. / Asteraceae	chinchilcoma, mankapaki	hojas, ramas tiernas o inflorescencias	amarillo	sulfato de aluminio

<i>Myrcia splendens</i> (Sw.) D.C. / Myrtaceae	arrayán, pampa orégano	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Myrica pubescens</i> H.& B. / Myricaceae	huacan-timbu, laurel	toda la planta	negro	
<i>Ocimum basilicum</i> L. / Lamiaceae	albahaca	hojas	verde	
<i>Olea europea</i> L. / Oleaceae	olivo, aceituna	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Opuntia soeherensii</i> Britt & Rose / Cactaceae	ayrampu	frutos y semillas	rojo y naranja	sulfato de aluminio
<i>Papaver rhoeas</i> / Papaveraceae	amapola	flores	rojo	
<i>Persea americana</i> Mill / Lauraceae	palta	fruto	rojo	
<i>Petroselinum sativum</i> Hoffm / Umbelliferae	perejil	hojas y tallos	amarillo verde	sulfato de aluminio sulfato de cobre
<i>Phytolacca</i> spp. / Phytolaccaceae	achiote silvestre	frutos	rojo oscuro	
<i>Picramia</i> spp. / Simaroubaceae	simatuba	ramas y hojas	negro	
<i>Poecilochroma punctata</i> (R.&P.) Miers. / Solanaceae	campanilla	frutos baya	azul	
<i>Polylepis incana</i> H.B.K. / Rosaceae	quiñual, quinoa	hojas y tallos	beige	alumbre
<i>Prosopis chilensis</i> (Molina) Stuntz / Leguminosae	algarrobo	resina aserrín del tallo	pardo oscuro mostaza	
<i>Prosopis juliflora</i> (Sw.) D.C. / Leguminosae	algarrobo, huarango	frutos	azul grisáceo gris a negro	sulfato de hierro
<i>Psoralea pubescens</i> Pers. / Fabaceae	culén, wallwa	hojas y tallos tiernos	amarillo	sulfato de aluminio

<i>Pteridium aquilinum</i> L. / Denstedtiaceae	helecho, aguila	brotos y ramas jóvenes	dorado amarillo verdoso	bicromato de potasio 1º bicromato de potasio 2º sulfato de cobre sulfato de aluminio
		hojas	amarillo	
<i>Punica granatum</i> L. / Punicaceae	granado	corteza de fruto	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Ranunculus</i> spp. / Ranunculaceae	botón de oro	hojas y tallos	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Relbunium hypocarpium</i> (L.) Hemsl. / Rubiaceae	antanco, chapi-chapi	raíces	marrón - rojizo rojo	alumbre
<i>Relbunium microphyllum</i> (A. Gray) Hermerl / Rubiaceae	chapi-chapi	raíces	rojo	
<i>Renealmia macrantha</i> Poepp. & Endl. / Zingiberaceae	mishqui - panga	frutos	negro	
<i>Ricinus communis</i> L. / Euphorbiaceae	higuerilla, ricino	frutos secos	marrón - caoba	sulfato de cobre
<i>Rorippa nasturtium-aquaticum</i> (L.) Hayek / Brassicaceae	berro	hojas y tallos	verde	sulfato de cobre
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. / Labiatae	romero	hojas y ramas secas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Rumex acetocella</i> / Polygonaceae	pucalojo	ramas	verde	sulfato de hierro
<i>Rumex crispus</i> L. / Polygonaceae	lengua de vaca, acetosa	hojas y raíces	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Rumex cuneifolius</i> Campd. / Polygonaceae	romaza o llaque	raíces	anaranjado, gris	
<i>Rumex</i> sp. / Polygonaceae	lengua de vaca, romaza	ramas	verde	sales de hierro

<i>Salix chilensis</i> Mol. / Salicaceae	sauce común	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Salix humboldtiana</i> Willd / Salicaceae		corteza	bayo	
<i>Salvia sagittata</i> R.et.P. / Labiatae o Lamiaceae	salvia	hojas y tallos	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Sambucus peruvianus</i> H.B.K. / Caprifoliaceae	sauco	corteza hojas fruto	amarillo verde, marrón morado, azul	
<i>Satureja pavoniana</i> Briq. / Labiatae o Lamiaceae	wayra sachá	hojas y ramas tiernas	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Schinus molle</i> L. / Anacardiaceae	molle, mulli, falso pimientó	hojas y ramas tiernas	amarillo verde	sulfato de aluminio sulfato de cobre
<i>Senecio roudbeckiaefolius</i> (Meyen & Walp) / Asteraceae	maiccha	flores y ramas	amarillo	
<i>Solanum lycioides</i> L. / Solanaceae	upa tankar	tallo y hojas	amarillo	
<i>Solanum nitidum</i> R.et.P. / Solanaceae	ñuñunga	frutos (tipo baya)	rojo y naranja	sulfato de aluminio
<i>Solanum tuberosum</i> L. / Solanaceae	papa	cáscara (T)	violeta, azul	
<i>Spartium junceum</i> L. / Leguminosae	retama	flores y tallos tiernos fotosintéticos	amarillo	sulfato de aluminio
<i>Swietenia macrophylla</i> G. King / Meliaceae	caoba	corteza	rojo	
<i>Swietenia</i> sp. / Meliaceae	pitotsi	liber	pardo	
<i>Tagetes minuta</i> L. / Asteraceae	wakatay	hojas y tallos	marrón - caoba	sulfato de cobre

Tagetes spp. / Asteraceae	wakatay, chikchimpay	hojas, tallos y flores	amarillo	sulfato de aluminio
Tecoma stans (L.) Juss / Bignoniaceae	huarango, huaranhua	tallos y hojas	amarillo, beige	
Teloschistes flavicans / Teloschistaceae		todo	rojo-ladrillo	
Thamnomlia vermicularis L. Ach. / Usneaceae	ayapa tutum, ujutillo	todo	amarillo	
Tillandsia capillaris R.&P. / Bromeliaceae	clavel del aire	todo	ambar anaranjado	
Tillandsia usneoides L. / Bromeliaceae	salvajina	todo	anaranjado	
Trichilia sp. / Meliaceae	uchumullaca	corteza	amarillo	
Tropaeolum majus L. / Tropaeolaceae	martuerzo, capuchina	flores amarillas y hojas	amarillo	sulfato de aluminio
Urtica dioica L. / Urticaceae	ortiga mayor	hojas y tallos	amarillo	sulfato de aluminio
Usnea barbata Fr. / Usneaceae	barba de viejo	toda la planta	rojo y naranja	sulfato de aluminio
Verbena officinalis H.B.K. / Verbenaceae	verbena, wirwina	hojas y tallos	amarillo	sulfato de aluminio
Viguiera lanceolata Britt / Asteraceae	sunchu	hojas y tallos	amarillo	sulfato de aluminio
Xanthium spinosum L. / Asteraceae	amor seco, Juan Alonso	hojas y tallos	amarillo verde	sulfato de aluminio sulfato de cobre
Zea mays L. / Poaceae	maíz morado	coronta y granos	marrón marrón dorado plomo - azul	alumbre o sulfato de cobre

- *Método directo en agua caliente*
  - se prepara el baño de tintura, sometiendo la planta a ebullición por un tiempo determinado hasta obtener el color deseado;
  - se separa la planta del líquido tintóreo;
  - se sumerge la lana en el baño tintóreo y se somete a ebullición durante 30 a 60 minutos hasta que la fibra tenga el color deseado; y
  - se enjuaga la lana teñida con agua fría o caliente y se seca.
  
- *Método indirecto con mordiente*
  - se coloca la lana en la solución del mordiente, y se hierve durante 1 hora o más (la proporción puede ser de 40 g de mordiente por litro de agua, utilizando 5 litros de agua para 1 kg de lana);
  - se prepara el baño de tintura, en otro recipiente, sometiendo la planta a cocción en agua durante 30-45 minutos, y separando luego la planta del líquido tintóreo; (20 litros del baño de tintura con 4 a 5 kg de la planta, para el teñido de 1,5 a 2 kg de lana).
  - se coloca la lana mordentada en el líquido tintóreo y se somete a cocción por 30 a 60 minutos, después de lo cual puede dejarse la lana en el baño tintóreo, por unas horas o una noche para lograr colores más intensos; y
  - se enjuaga la lana teñida y se seca.

Algunos ejemplos de teñido de fibras se encuentran en las Figuras 9.1 a 9.4.

Se entiende que un teñido directo se hace con plantas que son ricas en sustancias tánicas las que actúan como mordientes naturales.

## 9.4 COMPOSICION QUIMICA DE ALGUNAS ESPECIES UTILIZADAS EN EL TEÑIDO DE FIBRAS

Se incluye la composición química de 45 especies de la Tabla 9.1. Es posible que información complementaria así como información de especies no incluídas en esta sección se encuentre en los bancos de datos como NAPRALERT, MEDLINE, etc.

Los compuestos químicos reportados no necesariamente son los responsables del poder tintóreo de la especie. En su mayoría las especies han sido estudiadas desde el punto de vista de su aplicación como planta medicinal.

*Allium cepa* L.<sup>10</sup> / Liliaceae

Como el ajo, la cebolla contiene muchos compuestos orgánicos sulfurados, incluyendo sulfóxido de trans-S-(1-propenil)cisteína, sulfóxido de S-metilcisteína, sulfóxido de S-propilcisteína y cicloaliina. También contiene trazas de un aceite volátil compuesto principalmente de sulfuro de dipropilo y otros sulfuros; como contribuyentes del "flavour" se considera el disulfuro de metilpropilo, trisulfuro de metilpropilo, trisulfuro de dipropilo, disulfuro de alilpropilo, disulfuro de dimetilo, 3,4-dimetiltiofeno, disulfuro de metil-cis-propenilo, y otros.

Otros constituyentes son los ácidos fenólicos (cafeico, sinápico, p-coumarico, etc), flavonoides como quercetina y sus glicósidos, esteroides (colesterol, estigmasterol,  $\beta$ -sitosterol), saponinas, azúcares, vitaminas A, C, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, pectinas y antocianinas (Cy 3-glucósido, 3-laminaribiosido).

*Baccharis genistelloides* Pers.<sup>11</sup> / Asteraceae

Se ha registrado la presencia de los siguientes compuestos en las partes aéreas de esta planta: flavonoides como apigenina, cirsiol, cirsimaritina, eriodictiol, eupatrina, genkawanina, 3-O-metilokanina; clerodano diterpeno; en el aceite esencial: carquejol y su acetato.

*Baccharis salicifolia*<sup>13</sup> / Asteraceae

Contiene 4',5-dihidroxi-7-metoxiflavanona, flavonas, furoclerodanos.

*Berberis vulgaris* L.<sup>10,12</sup> / Berberidaceae

Contiene alcaloides como berberina, berbamina, oxiacantina, jatrorricina, columbamina, palmatina, isotetrandina, bervulcina, magnoflorina y antocianinas como Cy, Pn, Dp 3-glucósidos.

*Bidens andicola* HBK.<sup>14</sup> / Asteraceae

Contiene (R)-curquinona (deoxiperezona), (R)-perezona, (R)-hidroxiperezona.

*Bidens pilosa* L.<sup>11</sup> / Asteraceae

Los compuestos reportados son: hepta-2,4,6-triino-7-fenilo (fenilheptatriino), okanina-3'-glucósido, okanina-3'-O- $\beta$ -D-glucósido, quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucósido, ácido nicotínico, compuestos poliacetileno, ácido tánico, hidrocarburos C<sub>28</sub> a C<sub>33</sub>, y fitosterina B(II), ácido p-cumárico, y glicósidos de aurona.

*Caesalpinia coriaria* Willdenow<sup>13</sup> / Leguminosae

Sus hojas contienen ácido gálico, ácido elágico, miricetina, quercitrina, rutina.

*Caesalpinia spinosa* (Mol) Kuntze<sup>11</sup> / Caesalpinaceae

Las vainas contienen 50-60% de taninos y se reporta la presencia de baikianina, ácido digálico, ácidos gálico, pipercolico, 4-hidroxipipercolico y trigálico.

*Canna edulis* Ker.<sup>13</sup> / Cannaceae

Sus hojas contienen almidón,  $\beta$ -caroteno, xantófilas, cianidin-3-rutinósido, flavonoliglicósidos.

*Clorophora tinctoria* L. Gaud<sup>12</sup> / Moraceae

Contiene 5,7-dihidroxi-6C-prenilflavanona (6-prenilpinocembrin), morina, maclurina, ácido gálico, taninos, dihidro-kaemferol, dihidroquercetina, 1,3,6,7-tetrahidroxixantona.

*Coriaria ruscifolia* L.<sup>11</sup> / Coriariaceae

Contiene flavonoides: avicularina, quercetina, quercetina 3-O-L-galactósido, quercitrina; sesquiterpeno coriamirtina, coriamitrina;  $\beta$ -sitosterol; taninos y azúcares.

*Chenopodium ambrosioides* L.<sup>11</sup> / Chenopodiaceae

Su aceite esencial contiene ascaridol, causante del efecto antiparasitario de la planta; también contiene p-cimeno, limoneno, alcanfor, safrol,  $\beta$ -pineno, salicilato de metilo,  $\delta$ -terpineol y flavonoides como ramnósido de kaemferol, saponina chenopodium, chenopodiósidos A y B.

*Daucus carota* L.<sup>10</sup> / Apiaceae

El aceite volátil de las semillas de zanahoria contiene  $\alpha$ -pineno, carotol, daucol, limoneno,  $\beta$ -bisaboleno,  $\beta$ -elemano, cis- $\beta$ -bergamoteno, geraniol, acetato de geraniol, cariofileno y su óxido, azarona,  $\alpha$ -terpineol, terpin-4-ol,  $\gamma$ -decanolactona, cumarina y  $\beta$ -selineno, ácidos palmítico y butírico.

*Erythrina cristagalli* L.<sup>12</sup> / Fabaceae

Contiene pterocarpano demetilmedicarpina, faseolidina, cristacarpina.

*Eucalyptus globulus* Labill<sup>10</sup> / Myrtaceae

Las hojas contienen 0,5 a 3,5% de aceite volátil, taninos, ácidos polifenólicos (gálico, cafeico, ferulico, gentisico, etc.), flavonoides (quercetina, quercitrina, rutina, eucaliptina, hiperósido, etc.).

El aceite de eucalipto contiene usualmente 70 a 85% de eucaliptol (1,8-cineol), así como hidrocarburos monoterpénicos ( $\alpha$ -pineno, d-limoneno, p-cimeno,  $\beta$ -pineno,  $\alpha$ -felandreno, canfeno,  $\gamma$ -terpineno, etc.), sesquiterpenos (aromadendreno, globulal, epiglobulal, viridiflorol), aldehidos (mirtenal), cetonas (carvona y mentona), entre otros.

*Ficus carica* L.<sup>10,13</sup> / Moraceae

Contiene ficina, que es similar a la papaína en sus propiedades químicas, de hidrolizar proteínas, amidas, ésteres y pequeños péptidos; contiene también Cy 3-glucósido.

*Flaveria bidentis*<sup>12</sup> / Asteraceae

Contiene quercetina polisulfatada, quercetin-3-acetil-7,3',4'-trisulfato, quercetin-3,4'-disulfato ó 3,7,4'-trisulfato, quercetin-3'-metiléter-3,7-disulfato.

*Foeniculum vulgare* Mill<sup>10,13</sup> / Umbelliferae

Los frutos contienen 1,5 a 8,6% de aceite volátil, 9 a 28% de aceites fijos compuesto principalmente de ácido petroselinico (60 a 75%), ácido oleico, ácido linoleico, y altas concentraciones de tocoferoles; flavonoides (principalmente quercetin-3-glucurónido, rutina, isoquercitrina, quercetin-3-arabinósido y menor proporción de kaemferol-3-glucurónido y kaemferol-3-arabinósido; antocianinas (Cy 3-sinapilglucosilgalactósido); estigmasterol, proteína (16-20%), azúcares, vitaminas, minerales (relativamente altas en calcio y potasio).

El aceite volátil contiene trans-anetol (50-90%), fenchona (0-22%), estragol (metilchavicol), limoneno, canfeno,  $\alpha$ -pinenos, y otros terpenos en menor concentración.

*Guarea purpurea* C.D.C.<sup>10</sup> / Meliaceae

La corteza contiene pequeñas cantidades de alcaloide rusbiina (0,003 a 0,023%) de estructura aún no determinada,  $\beta$ -sitosterol, tanino, antraquinona, flavonoles, aceite volátil, y otros.

*Indigófera suffruticosa*<sup>12</sup> / Fabaceae

Contiene flavanona: louisfieserona A.

*Iris germanica* L.<sup>12</sup> / Iridaceae

Contiene isoflavonas irisolidina, 7-hidroxi-5,6-dimetoxi-3',4'-metilendioxiisoflavona, glicósidos de isoflavona tectoridina y homotectoridina (5,7,4'-trihidroxi-8,3'-dimetoxiisoflavona-7-glucósido).

*Lawsonia inermis* L.<sup>10</sup> / Litraceae

Contiene lawsona (0,55 a 1,0%), 1,4-naftoquinona, ácido gálico (5-10%) y tanino; también xantonas (laxantona-I y laxantona-II), cumarina (5-aliloxi-7-hidroxicumarina).

La lawsona es el principal principio activo como agente de coloración y agente farmacológico en esta especie conocida como henna. Se encuentra en la hojas y no está presente en la corteza, tallo o raíz. Se dice que el henna es probablemente el "más viejo cosmético conocido por el hombre", y ha retornado a la moda para el teñido del cabello, en productos cosméticos.

*Lepidophyllum quadrangulare* (Meyen) Benth & Hook<sup>12</sup> / Asteraceae

Sus hojas contienen flavonoide chrisosplenetin.

*Malphigia glabra* L.<sup>10</sup> / Malpighiaceae

En el fruto contiene 1-4,5% de vitamina C, el cual varía con la madurez de la planta. Otras vitaminas presentes son Vitamina A, tiamina, riboflavina y niacina.

*Marrubium vulgare* L.<sup>10</sup> / Labiatae o Lamiaceae

Contiene un diterpenolactona, marrubiina, que es el principio amargo (0,3-1%), varios alcoholes diterpénicos (marrubiol, marrubenol, peregrinol), alcaloides (betonicina), trazas de aceite volátil conteniendo  $\alpha$ -pineno, canfeno, limoneno, sabineno, p-cimeno y otros sesquiterpenos.

*Minthostachys mollis* (Kunth) Griseb<sup>11</sup> / Lamiaceae (Labiatae)

El aceite esencial contiene (-)- $\beta$  pineno, (-)-limoneno, (-) mentona, pulegona, (+)-isomentona, ácido piperínico,  $\gamma$ -pineno, 1-8-cineol y carvona.

*Morus nigra* L.<sup>15</sup> / Moraceae

Contiene Cy 3-glucósido.

*Muehlenbeckia volcánica* (Benth) Endl.<sup>11</sup> / Polygonaceae

La materia colorante en el fruto es un pigmento del tipo antocianina. Análisis químico revela: saponinas, taninos, rutina y pigmentos antraquinónicos (ácido crisofánico y su glicósido, emodina y su glicósido, y rheína).

*Ocimum basilicum* L.<sup>10</sup> / Lamiaceae

El aceite volátil (~ 0,8%) contiene d-linalol, y metilchavicol como mayores componentes, en una proporción del 55 y 70% respectivamente; otros componentes son

cinamato de metilo, 1,8-cineol, eugenol, borneol, geraniol, ocimeno, anetol,  $\beta$ -cariofileno, etc.

*Olea europea* L.<sup>15</sup> / Oleaceae

Contiene Cy 3-glucósido y 3-rutinósido, Pn 3-(dicafeil-soforósido)-5-glucósido.

*Persea americana* Mill<sup>10,11</sup> / Lauraceae

La pulpa contiene ácidos grasos (de 4 a 40% dependiendo de la época, clima, localidad, etc.), carbohidratos y azúcares (6-9%), proteína (2%), dos sustancias amargas (1-acetoxi-2,4-dihidroxiheptadeca-16-eno y 1,2,4-trihidroxiheptadeca-16-eno), y otros.

Las semillas contienen alcoholes polihidroxilados (volemitol, perseitol, arabinitol, galactitol, glicerol), azúcares raros (D-manoheptulosa, etc.), avocatina, 4,8"-bis-catequin (flavonol condensado), los ácidos grasos contenidos también en las semillas son principalmente oleico, linoleico, palmítico, esteárico, linoléico, cáprico y mirístico.

*Petroselinum sativum* Hoffm<sup>10</sup> / Umbelliferae

Las semillas contienen 2-7% de aceite volátil, 13-20% de aceite fijo conteniendo principalmente ácido petroselínico (ácido cis-6-octadecenoico) y menor cantidad de ácidos palmítico, esteárico, mirístico, oleico, linoleico, etc; flavonoides (apigenin y luteolin-7-apiosilglucósido).

Las hojas contienen aceite volátil (0,05-0,3%), furocumarina (bergapteno, xantotoxin), flavonoides (apigenin y luteolin-7-apiosilglucósido, apigenin y luteolin-7-diglucósido).

El aceite volátil está conformado por miristicina,  $\beta$ -felandreno, mirceno, apiol, terpinoleno,  $\alpha$  y  $\beta$ -pineno, trans- $\beta$ -ocimeno,  $\gamma$ -terpineno, etc.

*Prosopis juliflora* (Sw.) DC.<sup>11</sup> / Leguminosae

En las hojas se reporta la presencia de alcaloides indolizidínicos (juliflorina o juliprosopina, juliflorinina, juliprosina, julifloricina y julifloridina), de alcaloides indólicos-triptamina y 5-hidroxitriptamina-, de ácido piperólico y 4-hidroxipiperólico.

En frutos y vainas se encuentran cumarinas, glicósidos de leucocianidina y kaemferol. En las semillas recién germinadas, colinestearasa.

*Punica granatum* L.<sup>12</sup> / Punicaceae

Los frutos contienen Cy, Dp, Pt 3-glucósidos y 3,5-diglucósidos. También se encuentra Cy, Dp, Mv glucósidos y Pg 3,5-diglucósidos.

*Ricinus communis* L.<sup>10,11</sup> / Euphorbiaceae

Se han reportado los siguientes compuestos en diferentes partes de esta planta:  $\beta$ -amirina, ácido aspártico, astragalina, 5-deshidroavenasterol, brassicasterol, campesterol,  $\beta$ -caroteno, casbeno, 6,7-dihidroxi-8-metoxicumarina, hiperósido, hemaglutinina, kaemferol-3-O- $\beta$ -D-rutinósido, quercetina-3-O- $\beta$ -D-glucósidos, rutina, ácido gálico, elágico, polifenoles, taninos, ácido ricinoleico (1,6-2%),  $\alpha$ , $\beta$  y  $\gamma$ -ricina, N-desmetilricinina.

El aceite de ricino o "castor oil" es una mezcla de triglicéridos de los cuales de 75 a 90% es la triricinoleína. Esta se hidroliza en el intestino por las lipasas y se libera el ácido ricinoleico, un hidroxiaácido, que ejerce efecto laxante. La ricina es una glicoproteína de un peso molecular de 65 000, que consiste en una cadena neutra A y una ácida B, unidas por enlaces disulfuros.

*Rosmarinus officinalis* L.<sup>10</sup> / Labiatae

Contiene ~ 0,5% aceite volátil; flavonoides (diosmetina, diosmina, genkwanina, luteolina, 6-metoxiluteolina, apigenina, hispidulina, etc.), ácidos fenólicos (rosmarínico, labiático, clorogénico, cafeico), ácidos triterpénicos (ursólico, oleanólico). El aceite esencial contiene principalmente hidrocarburos monoterpénicos ( $\alpha$  y  $\beta$ -pinenos, canfeno, limoneno, etc.), cineol, borneol, canfor, linalol, terpineol, acetato isobornilo, etc.

*Rumex acetocella* L.<sup>11</sup> / Polygonaceae

Los compuestos más conocidos de esta planta medicinal son derivados de hidroxiantraquinonas e hidroxiantronas, polisacáridos, C-glicósidos de flavonas y taninos. Otros constituyentes aislados son la vitamina C, piridoxina, oxalato de calcio y los ácidos orgánicos-oxálico, tartárico y málico. También han sido detectados aminoácidos libres -alanina, fenilalanina, leucina y el ácido pantoténico.

Los derivados de antraquinona aislados de *Rumex acetosa* son: 1,8-dihidroxiantraquinona, aloe emodina, physcion, crisofanol emodina, crisofanol-8-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, emodina 8-O- $\beta$ -D-glucopiranosido, y physcion 1-O- $\beta$ -D-glucopiranosido.

El estudio de las partes aéreas permitió aislar seis C-glicósidos de flavonas: isoorientina, orientina, 2'-O-acetilisoorientina, 2''-O-acetiloorientina, 2'',6''-di-O-acetilisoorientina, y dos flavonol O-glicósidos, avicularina, hiperina. Los polisacáridos aislados de las hojas y raíces de *Rumex acetosa* tienen un peso molecular superior a 10 000 y son agentes antitumorales.

También se reportan emodina antrona, nepodina, nepósido, vitexina,  $\beta$ -sitosterol, y quercetina.

*Rumex crispus* L.<sup>11</sup> / Polygonaceae

Contiene quinonas, aceite esencial, 1,2-diacetil-cis-3-hexen-1-ol y 1-dodecanol.

*Schinus molle* L.<sup>11</sup> / Anacardiaceae

En los frutos: cianidina-3-galactósido, cianidina-3-rutinósido y peonidina-3-glucósido; en corteza y hojas: ácidos linolénico, linoléico, lignocérico y esteárico.

Además, se ha reportado la presencia de los siguientes compuestos:  $\alpha$ -amirina, fisetina, ácido gálico, glucosa y fructosa, piperina, ácido protocatéquico, quercetina, quercitrina, isoquercitrina, rutina,  $\beta$ -sitosterol, taninos, preisocalameneidol.

El aceite esencial contiene  $\alpha$ -bergamont-trans-eno, bourboneno,  $\alpha$ - y  $\delta$ -cadineno,  $\alpha$ - y  $\gamma$ -calacoreno, calameneno, canfeno, car-3-eno, carvacrol,  $\beta$ -cariofileno,  $\gamma$ -copaeno, croweacina,  $\gamma$ -cubebeno, p-cimeno, D-elemeno, elemol,  $\alpha$ - y  $\gamma$ -eudsmol, germacreno-D, butirato de geraniol,  $\beta$ -guaiano,  $\alpha$ -humuleno, (+)-limoneno,  $\alpha$ - y  $\gamma$ -muuroloeno, muurolol T, mirceno, hexanoato de nerol,  $\alpha$ - y  $\beta$ -felandreno,  $\alpha$ - y  $\beta$ -pineno, sabineno, a-terpineol,  $\gamma$ -terpineno; las semillas tienen diversos ácidos grasos.

*Spartium junceum* L.<sup>10</sup> / Leguminosae

Contiene alcaloides (principalmente anagrina, citisina, termopsina, esparteína); n-nonacosano, 1,18-octadecanodiol, 1,26-hexacosanodiol, lupeol, sitosterol, terpenos, ácidos fenólicos, flavonoide (formononetin-7-glucósido), pterocarpano (sparticarpina).

*Tagetes minuta* L.<sup>10,11</sup> / Asteraceae

Planta rica en esencia (0,5%) que se resinifica con facilidad, contiene diversos terpenos. El aceite esencial contiene bitienil, canfeno, cinerina I y II, citral, ácidos fórmico y acético, monometilfumarato, 5-isobutil-3-metil-furano-2-carbaldehído, jasmolina I y II, limoneno, linalool, cis-ocimenona, trans-ocimenona, patulitrina, fenilatenol,  $\alpha$ - y  $\beta$ -pineno, piretrina I, II, quercetage-trina, salicialdehído, ácido siringico, tagetona, cis-tagetona, dihidrotagetona,  $\alpha$ -tertienil, tiofeno y ácido valeriano.

*Tecoma stans* (L.) Juss<sup>11</sup> / Bignoniaceae

Las hojas contienen alcaloides (tecomina, tecomanina, tecostamina, actidina, 4-noractidina, indol, triptamina, boschniakina, tecostidina, etc.), triterpenoides (ácidos ursólico, oleanólico y  $\alpha$ -amirina),  $\beta$ -sitosterol, compuestos fenólicos (ácido clorogénico, salicílico, gentísico, cafeico, vainillico, sinapico, O-cumarico), glucósidos iridoides (amarelósido, plantarenalósido, stansiósido).

La madera contiene alcaloides (tecomina, tecomamina), flavonoides, antocianinas.

*Teloschistes flavicans*<sup>14</sup> /

Contiene antraquinonas, emodina, ácido parietenico, xantorin-5-metiléster.

*Tillandsia usneoides* L.<sup>12</sup> / Bromeliaceae

Contiene flavonoides 6-hidroximiricetin-6,3',4'-trimetil-éter y 6-hidroximiricetin-3,6,3',5'-tetrametiléter; sus hojas y tallos contienen 6-hidroximiricetin-6,3',5'-trimetiléter-3-glucósido y 6-hidroximiricetin-4,6,3',5'-tetrametiléter-7-glucósido.

*Tropaeolum tuberosum* R. & P.<sup>11</sup> / Tropaeolaceae

Contiene varios ésteres metílicos de cadena larga, el tiobenzoato de metilo, la p-metoxibencilacetamida y la correspondiente tioacetamida.

*Xanthium spinosum* L.<sup>11</sup> / Asteraceae

Se han registrado los siguientes compuestos en diferentes partes de la planta: lignanos; ácidos cafeico y cumarínico; quercetina; sesquiterpeno, santatina; escualeno, 2-acetoxi-4-hidroxidesacetilxantanol, 2-hidroxi-4-acetil-desacetilxantanol, xantatina, 1 $\alpha$ , 5 $\alpha$ -epoxi-1,5-xantatina, desacetilxantiuminol; xantanólidos, vainillina y taninos. Un screening fitoquímico indicó la presencia de alcaloides. En semillas, ácido linoleico; en frutos  $\beta$ -sitosterol.



Fig. 9.1 Proceso de teñido en el laboratorio



Fig. 9.2 Fibras teñidas



Fig. 9.3 Tejido artesanal



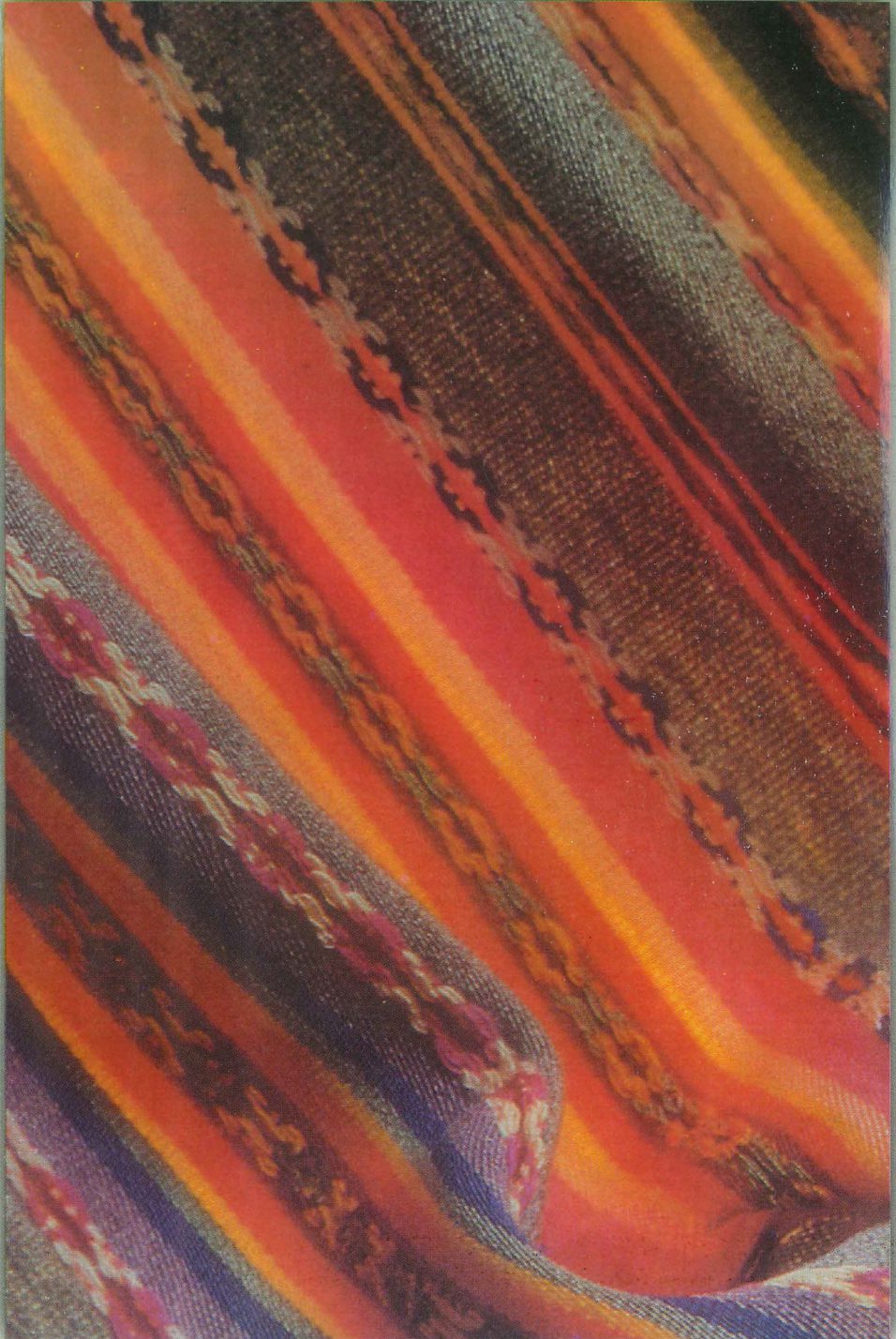


Fig. 9.4 Textiles teñidos con colorantes naturales







## REFERENCIAS

1. Cornejo, V. (1981) *Plantas Tintóreas de la Provincia de Huamanga y su Aplicación en Artesanía Textil*. UNSCH, Ayacucho, Perú.
2. Zumbühl, H. (1986) *Tintes Naturales para Lana de Oveja*. Karma Maki, Huancayo, Perú.
3. Urrunaga, R. *Plantas Tintóreas de la Región Inca*. UNSAAC, Cusco, Perú. Resultados aún no publicados.
4. Sagástegui, A. (1995) *Diversidad Florística de Contumazá (Cajamarca)*. UPAO, Trujillo, Perú.
5. Rutter, R. (1990) *Catálogo de Plantas Útiles de la Amazonía Peruana*. Ministerio de Educación, Lima, Perú.
6. Barriga, R.R. (1994) *Plantas Útiles de la Amazonía Peruana*. CONCYTEC, Lima, Perú.
7. Soukup, J. (1987) *Vocabulario de los Nombres Vulgares de la Flora Peruana*. Ed. Salesianos, Lima, Perú.
8. Roquero, A., Córdoba, C. (1981) *Manual de Tintes de Origen Natural para Lana*. Ed. del Serbal, Barcelona, España.
9. Flores, B., Callo, N., Cabello, I., Doroteo, V. *Manual de Laboratorio de Química Orgánica*. PUCP. En preparación.
10. Leung, A.Y. (1980) *Encyclopedia of Common Natural Ingredients*. Wiley Interscience, N.Y.
11. Gupta, M., ed. (1995) *270 Plantas Medicinales Iberoamericanas*. CYTED-SECAB, Bogotá, Colombia.
12. Harborne, J.B., Mabry, T.J., eds. (1982) *The Flavonoids. Advances in Research*. Chapman and Hall, London.
13. Correa, J.E., Bernal, Y., eds. (1990 y 1995) *Especies Vegetales Promisorias de los Países del Convenio Andrés Bello-SECAB*, Bogotá, Colombia. Tomos V y XI, respectivamente.
14. Thomson, R.H. (1987) *Naturally Occurring Quinones*. Chapman and Hall, London.
15. Markakis, P., ed. (1982) *Anthocyanins as Food Colors*. Academic Press, N.Y.



## ÍNDICE DE MATERIAS

- Achiote, véase *Bixa orellana*  
bixina de 181  
formas de presentación del 182  
materia colorante del 181  
norbixina de 182
- Annatto, véase *achiote*
- Azafrán, véase *Crocus sativus*  
crocetina de 185  
crocina de 185  
formas de presentación del 186  
materia colorante del 185
- Antociani(di)na  
aciladas 100, 108  
aislamiento 103  
biosíntesis 103  
cambios de coloración 96  
cromatografía de capa delgada 105  
cromatografía de papel 103, 105, 107  
cromatografía HPLC 104, 105, 107  
distribución 106  
ensayos de coloración 132  
espectroscopía en el visible 105, 107  
estabilidad 97, 99  
estructura 97, 100, 108  
extracción 103  
identificación 105  
ocurrencia natural 112, 115  
resonancia magnética nuclear de protón 108
- Ayrampo, véase *Opuntia soeherensii*  
betanina del 207  
materia colorante del 207
- Betalainas  
betacianinas 119, 121  
betaxantinas 119, 123  
biosíntesis 124  
cromatografía de capa delgada 128  
cromatografía de papel 128  
cromatografía en gel 127  
cromóforo 120  
electroforesis 128  
ensayos de coloración 132  
espectroscopía en el visible 128, 130  
estabilidad 120, 124  
estructura 120, 130  
extracción 127  
identificación 128  
resonancia magnética nuclear de protón 130
- Betarraga, véase *Beta vulgaris*  
materia colorante de la 186  
formas de presentación de la 187  
betanina de 186  
vulgaixantina de 123, 186
- Carmín, véase *cochinilla*
- Carotenoides  
biosíntesis 51  
cromatografía de capa delgada 59  
cromatografía de columna 58  
distribución 63, 68  
espectroscopía en el visible 60, 64, 65, 66

- estructura 46
- extracción 51
- identificación 60
- nomenclatura 46
- purificación 51
- Clorofila
  - cromatografía de capa delgada 178
  - espectroscopía en el visible 178
  - estructura 177
  - extracción 177, 210
- Cochinilla, *véase Dactilopius coccus Costa*
  - ácido carmínico 189
  - carmín 190
  - formas de presentación 191
  - materia colorante de 190
- Color Index 47, 75, 141
- Colorantes para alimentos 181, 210
  
- Enocianina, *véase antocianinas, uvas* 96, 205
- Exportaciones peruanas de colorantes naturales 213
  
- Flavonoides
  - aurona 74, 77, 83
  - biosíntesis 74
  - chalcona 74, 77, 83
  - cromatografía de capa delgada 78
  - cromatografía de columna 79
  - cromatografía de papel 78
  - cromatografía en contracorriente 82
  - cromatografía HPLC 81
  - espectrometría de masas 86
  - espectroscopía ultravioleta 83
  - estructura 72, 73, 75, 87
  - extracción 77
  - flavona 73, 74, 77, 83, 85
  - flavonol 73, 74, 77, 85
  - flavanona 73, 77, 85
  - identificación 83
  - isoflavona 72, 73, 77, 85
  - purificación 77
  - resonancia magnética nuclear de carbono-13 86
  - resonancia magnética nuclear de protón 85
- Maíz morado
  - antocianinas de 208
  - materia colorante de 208
- Marigold, *véase Tagetes erecta*
  - formas de presentación del 194
  - luteína del 193
  - materia colorante del 193
  
- Palillo o cúrcuma
  - curcumina del 197
  - formas de presentación del 198
  - materia colorante del 197
- Paprika, *véase Capsicum annum*
  - capsantina de 201
  - capsorrubina de 202
  - formas de presentación de 202
  - materia colorante de 201
- Plantas tintóreas 233
  
- Quinonas
  - antraoles 138
  - antraquinona 140, 141, 148, 151, 158
  - antronas 140
  - benzoquinonas 139, 153
  - biosíntesis 138, 143
  - cromatografía de capa delgada 142
  - cromatografía de columna 142
  - cromatografía en contracorriente 142
  - espectroscopía infrarroja 146, 149, 155
  - espectroscopía ultravioleta y visible 145, 147, 149, 155
  - estructura 138, 141, 155
  - extracción 142
  - furanonaftoquinona 139, 157
  - identificación 144
  - naftoquinona 139, 141, 147, 149, 153, 155
  - piranonaftoquinona 139
  - quinona isoprenoide 140

- reacción de color 137, 144
- resonancia magnética nuclear 146, 153, 155
  
- Sinopsis histórica 5
  
- Tecnología de tinción de fibras 232
  
- Uvas, *véase Vitis*
  - antocianinas de 205
  - formas de presentación 206
  - materia colorante de 206
  
- Xantonas
  - biosíntesis 170
  - cromatografía de capa delgada 171
  - cromatografía en gel 171
  - cromatografía HPLC 171, 176
  - espectroscopía infrarrojo 174
  - espectroscopía ultravioleta 172, 173, 176
  - estructura 168, 175
  - extracción 171
  - identificación 172
  - resonancia magnética nuclear 174



## ÍNDICE DE COMPUESTOS

### Antociani(di)na

- capensinidina 98
- cianidina 96, 97, 98, 107, 208
  - acilada 101
  - glicósido 98, 101, 107, 109, 115
- delfinidina 97, 98, 107
  - acilada 101, 102, 108
  - glicósido 98, 107, 115
- hirsutidina 98
- malvidina 97, 98, 107, 116, 206
  - acilada 110
  - glicósido 107, 110
- pelargonidina 97, 98, 107, 115, 207
  - acilada 100, 111
  - glicósido 107
- peonidina 97, 98, 107, 115, 207
  - acilada 100
  - glicósido 115
- petunidina 97, 98, 107

### Betalainas

- amarantina 121, 129
- betanina 119, 121, 124, 125, 126, 129, 186, 207
- bougainvilleina 122, 129
- dopaxantina 121
- filolactina 122
- gomprenina 121, 129
- humilaxantina 130
- indicaxantina 119, 123, 129
- miraxantina 121, 129, 130
- muscapurpurina 120
- muscaxantina 120
- neobetanina 131

- portulaxantina 123
- vulgaxantina 121, 129, 186

### Carotenoides

- astaxantina 49, 68
- bixina 48, 63, 181, 214
- cantaxantina 49, 63
- $\alpha$ -caroteno 46, 47, 214
- $\beta$ -caroteno 2, 21, 46, 47, 59, 61, 62, 67, 196
  - 3-OH- $\beta$ -caroteno 61
  - 4-OH- $\beta$ -caroteno 61
  - 3,3'-diOH- $\beta$ -caroteno 61
  - 4,4'-diOH- $\beta$ -caroteno 61
  - 5,6-seco- $\beta$ , $\epsilon$ -caroteno-5,6-diona 48
  - 8'-apo- $\beta$ -caroten-8'-oico, ácido 48
  - 8'-apo- $\beta$ -caroten-8'-al 49
- $\gamma$ -caroteno 47, 59, 61, 62, 196
- $\epsilon$ -caroteno 46, 47, 59, 62
- 9'z-6'-apo-licopen-6'-oato de metilo 66
- capsantina 49, 59, 62, 63, 65, 201, 203
- capsorrubina 49, 201, 203
- $\beta$ -criptoxantina 59, 62, 196
- crocetina 48, 63, 185
- crocina 185
- $\alpha$ -crustacianina 68
- curcumina 197, 214
- isoeaxantina 50
- lactucaxantina 50
- licopeno 46, 47, 59, 61, 62, 63, 64
  - licopodieno 63
  - 3,4-dihidrolipopeno 61
  - bis-dehidrolipopeno 61
- luteína 50, 59, 62, 63, 193, 196, 203, 213
  - luteína-5,6-epóxido 50

neoxantina 63, 196, 203  
 norbixina 182  
 toruleno 48  
 violaxantina 51, 59, 62, 63  
 xantófila 45, 48  
 $\beta$ -zeacaroteno 48  
 zeaxantina 50, 59, 62, 63

Colorantes artificiales

amaranto (rojo N° 2) 187, 191  
 azul brillante (azul N°1) 2  
 carmoisina 2, 187  
 eritrosina (rojo N°3) 191  
 mauveina 1  
 naranja permanente 2  
 ponceau 4R 2, 187  
 rhodamina  $\beta$  2  
 rojo allura (rojo N°40) 2, 191  
 sunset yellow (amarillo N°6) 183, 196, 202  
 tartrazina (amarillo N°5) 186, 202

Compuestos diversos

ácido úsnico 3  
 brazilina 75  
 capsaicina 201  
 fenazina 5  
 fenoxazina 5  
 ficocianina 3  
 ficoeritrina 3  
 flavina 5  
 hemateína 75  
 índigo 7  
 pterina 5

Clorofila 174, 210

Flavonoides

antocianidina 74, 83  
 apigenina 72, 73  
 aurona 74, 77, 83  
 buteína 74

cartamina 75  
 chalcona 74, 77, 83  
     chalcona 2,2'-dihidroxi- 87  
 flavanona 73, 77, 87  
 flavonol 73, 74, 77, 83  
 flavona 73, 74, 77, 83, 87  
     flavona 7-metoxi 87  
 genisteína 73, 75  
 hesperetina 73  
 hispidol 74  
 isoflavona 72, 73, 74, 77, 83  
 kaemferol 73  
 lonchocarpina 3,4-dihidroxi- 74  
 luteolina 73, 75  
 luteona 87  
 morina 8, 75, 89  
 naringenina 73, 87  
 quercetina 73, 75, 87  
 quercitrina 75  
 ramnetina 75  
 rotenona 73  
 rutina 72, 75  
 silimarina 72  
 sulferetina 73, 87

Quinonas

ácido carmínico 5, 142, 189, 213  
 alcanina 141  
 alizarina 25, 141, 143, 148  
 biruloquinona 152  
 ciclotrijuglona 150  
 crisofanol 148  
 (1R, 3R)-deoxifrenolicina 150  
 emodin-aldehído 152  
 emodina 138, 141, 148  
 endocrocina 138, 151  
 físcion 148  
 hipericina 142  
 juglona 141, 143, 147  
     3,3'-bijuglona 149  
 lapachol 138, 141, 154  
     lapachona 147  
          $\alpha$ -lapachona 6-metildehidro- 149  
 lawsona 141, 143, 147  
 morindanigrina 142

morindona 142  
munjistina 141  
naftoherniarina 149  
plumbagina 138, 147  
purpurina 142  
 $\omega$ -rodoptilometrina 152  
rubiadina 141  
shikonina 138, 141, 143  
(+)-skyrin (5,5'-biomodina) 151  
soranjidiol 142  
viopurpurina 150  
xantopurpurina 141  
xantorin-5-metil éter 152

#### Xantonas

bellidifolina 169, 174, 175, 176  
bellidifolina-8-0-glucósido 174  
desmetilbellidifolina 169, 176  
desmetilbellidifolina-8-0-glucósido  
174

corimbiferina 175  
garcilivina 169  
genhsiona 174, 176  
gentiseína 168, 176  
griseoxantona 171  
jarareubina 169  
mangiferina 167, 168  
mangostina 169  
psorospermin 175  
swertianina 169, 174, 175, 176  
xantona  
1,6-dihidroxi-3,5-dimetoxi- 169  
1,7-dimetoxi-2,3-metilendioxi- 169  
1-hidroxi-3,5-dimetoxi- 175  
1-hidroxi-3,5,6,7,8-pentametoxi-  
169  
1,4,5-trihidroxi-3-(3-metilbut-2-enil)-  
169  
1,6,8-trihidroxi-3,5,7-trimetoxi- 175



## ÍNDICE DE NOMBRES ESPECÍFICOS\*

- Acacia macrocartha* 233  
*Acalipha macrostachya* 233  
*Acca lanuginosa* 233  
*Alkanna tinctoria* 8, 141  
*Allium cepa* 115, 233, 245  
*Alnus jorullensis* 233  
*Amanita muscaria* (H) 120  
*Amaranthus caudatus* 127, 233  
*Amaranthus hybridus* 233  
*Aspergillus sulphureus* (B) 150  
*Aspergillus aculeatus* (B) 150
- Baccharis genistelloides* 233, 245  
*Baccharis lanceolata* 233  
*Baccharis prostata* 8  
*Baccharis spp.* 233  
*Bactris gasipaes* 233  
*Berberis boliviana* 234  
*Berberis flexuosa* 234  
*Berberis lutea* 234  
*Berberis vulgaris* 115, 234, 245  
*Beta vulgaris, véase betarraga* 119, 186  
*Bidens andicola* 234, 245  
*Bidens humilis* 8  
*Bidens pilosa* 234, 245  
*Bixa orellana, véase achiote* 63, 181, 234  
*Bocconia integrifolia* 234  
*Botryococcus braunii* (OM) 63  
*Bougainvillea pachyphylla* 234  
*Brassica oleraceae* 115  
*Buddleia coriacea* 234  
*Buddleia longifolia* 234
- Caesalpinia coriaria* 234, 245  
*Caesalpinia echinata* 8  
*Caesalpinia paipai* 234  
*Caesalpinia spinosa* 8, 235, 246  
*Calceolaria deflexa* 235  
*Calceolaria lineris* 235  
*Calceolaria pinnata* 235  
*Calceolaria speciosa* 235  
*Calendula officinalis* 235  
*Caloplaca spp. (L)* 152  
*Campomanesia lineatifolia* 197  
*Canna edulis* 235, 246  
*Cantharellus cinnabarinus* (H) 83

---

\* *Bacterias* (B)  
*Hongos* (H)  
*Insectos* (I)  
*Líquenes* (L)  
*Organismos marinos* (OM)

- Capsicum annum*, véase *párika* 63, 201  
*Cassia angustifolia* 160  
*Cassia hoockeriana* 235  
*Cassia lateopetiolata* 235  
*Cassia obtusifolia* 152  
*Cassia occidentalis* 152  
*Cedrella fissilis* 235  
*Cestrum hediodinum* 235  
*Citrus sinensis* 115  
*Cladonia spp. (L)* 3  
*Clorophora tinctoria* 8, 235, 246  
*Colletia spinosa* 235  
*Coreopsis senaria* 235  
*Coreopsis sp.* 235  
*Coriaria ruscifolia* 235, 246  
*Cortinarius armillatus (H)* 151  
*Cortinarius atrovirens (H)* 151  
*Cortinarius ionochlorus (H)* 151  
*Cortinarius odoratus (H)* 151  
*Crocus sativus*, véase *azafrán* 8, 63, 185  
*Curcuma longa*, véase *palillo* 197, 236  
*Cybistax antisiphilitica* 236  
*Cybistax quinquefolia* 236  
*Cyphomandra betaceae* 115  
*Cynara scolymus* 115, 236  
*Chenopodium ambrosioides* 236, 246  
*Chenopodium murale* 236  
*Chenopodium quinoa* 236
- Dactilopius coccus* Costa (l), véase *cochinilla* 8, 142, 189, 236  
*Daphnopsis weberbaueri* 236  
*Daucus carota* 63, 236  
*Datura stramonium* 236  
*Dermocybe cimamomeolutea (H)* 163  
*Dermocybe icterinoides (H)* 163
- Echinaster echinoporus (OM)* 152  
*Elaeis guinensis* 63  
*Ephedra americana* 236  
*Ephedra torreyana* 236  
*Erythryna cristagalli* 236, 246  
*Erythryna edulis* 237  
*Erythroxyllum paraense* 237
- Escallonia resinosa* 237  
*Escobedia scabrifolia* 197  
*Eucalyptus globulus* 237, 246  
*Eugenia riparis* 237  
*Euphausia superba (OM)* 68
- Ficus carica* 115, 246  
*Flaveria bidentis* 237, 246  
*Foeniculum vulgare* 237, 247  
*Fomes annosus (H)* 149  
*Fourcroya andina* 237  
*Fragaria spp.* 115  
*Fuchsia macrostema* 237  
*Fulgencia spp. (L)* 152
- Galium aparine* 237  
*Genipa americana* 237  
*Genipa oblongifolia* 8, 237  
*Genista tinctoria* 237  
*Gentianella tristicha* 172  
*Guarea purpurea* 237, 247
- Hedera helix* 237  
*Hematoxyllum campechianum* 8  
*Homarus gammarus (OM)* 68  
*Hypericum laricifolius* 238  
*Hypericum perforatum* 142
- Inga feuillei* 238  
*Indigofera añil* 238  
*Indigofera suffruticosa* 238, 247  
*Indigofera tinctoria* 7, 238  
*Indigofera truxillensis* 238  
*Ipomea batatas* 63, 115  
*Ipomea tricolor* 112  
*Iris germanica* 238, 247  
*Isatis tinctoria* 7
- Juglans neotropica* 238  
*Juglans regia* 141, 149, 150

- Kagea neckia lanceolata* 238  
*Krameria triandra* 238
- Lawsonia alba* 141  
*Lawsonia inermis* 155, 238, 248  
*Lepechinia meyenii* 238  
*Lepidium chichicara* 238  
*Lepidophyllum quadrangulare* 238, 248  
*Lepidophyllum tola* 238  
*Lithospermum erythrorhizon* 141  
*Lupinus aridulus* 239  
*Lupinus paniculatus* 239  
*Lycopersicon esculentum* 63
- Mangifera indica* 115  
*Malphigia glabra* 239, 248  
*Malus pumila* 115  
*Marrubium vulgare* 239, 248  
*Miconia chrysophylla* 239  
*Minthostachys mollis* 239, 248  
*Mirabilis jalapa* 239  
*Morinda umbellata* 142  
*Morus nigra* 115, 239, 248  
*Monnina salicifolia* 239  
*Muehlenbeckia hastulata* 239  
*Muehlenbeckia volcánica* 8, 239, 248  
*Murraya paniculata* 239  
*Mutisia viciaefolius* 239  
*Myrcia splendens* 240  
*Myrica pubescens* 240
- Ocimum basilicum* 240, 248  
*Olea europea* 115, 240, 249  
*Opuntia ficus indica* 119, 189  
*Opuntia soeherensii*, véase *ayrampo* 119, 207, 240
- Papaver rhoeas* 240  
*Parmelia birulae* (L) 152  
*Passiflora edulis* 115  
*Passiflora quadrangularis* 116  
*Patinopecten yessoensis* (OM) 68
- Persea americana* 240, 249  
*Petroselinum sativum* 240, 249  
*Phytolacca* spp. 240  
*Picramia* spp. 240  
*Ploiarum alternifolium* 159  
*Poecilochroma punctata* 240  
*Polylepsis incana* 240  
*Polyporus cinnabarimes* 5  
*Prosopis chilensis* 240  
*Prosopis juliflora* 240, 249  
*Prunus avium* 116  
*Pseudomona* spp. 5  
*Psoralea pubescens* 240  
*Pteridium aquilinum* 241  
*Punica granatum* 116, 241, 249  
*Ranunculus* spp. 241  
*Raphanus sativas* 116  
*Relbunium hypocarpium* 241  
*Relbunium microphyllum* 8, 241  
*Renalmia macrantha* 241  
*Rhamnus frangula* 141  
*Rhamnus prinoides* 161  
*Ricinus communis* 241, 250  
*Rocella tinctoria* (L) 5  
*Rorippa nasturtium-aquatium* 241  
*Roseda luteola* 8  
*Rosmarinus officinalis* 241, 250  
*Rubia oncotricha* 158  
*Rubia tinctorium* 7, 141  
*Rumex acetocella* 241, 250  
*Rumex crispus* 241, 251  
*Rumex cuneifolius* 241  
*Rumex* sp. 241  
*Ruta graveolens* 149
- Salix chilensis* 242  
*Salix humboldtiana* 242  
*Salvia sagittata* 242  
*Sambucus nigra* 116  
*Sambucus peruvianus* 242  
*Satureja pavoniana* 242  
*Schinus molle* 8, 116, 242, 251  
*Senecio roudbeckiaefolius* 242  
*Solanum lycioides* 242  
*Solanum nitidum* 242

- Solanum pseudolyciodes* 8  
*Solanum tuberosum* 116, 242  
*Spartium junceum* 242, 251  
*Streptomices* spp. 5  
*Streptomices roseofulvus* (B) 150  
*Strongylocentrotus nudus* (OM) 151  
*Swietenia macrophylla* 242  
*Swietenia* sp. 242  
*Symphytum officinale* 116
- Tabebuia* sp. 141  
*Tabebuia incana* 157  
*Tagetes erecta*, véase *marigold* 193  
*Tagetes minuta* 242, 251  
*Tagetes* spp. 243  
*Tecoma* sp. 141  
*Tecoma stans* 243, 251  
*Tectona grandis* 162  
*Teloschistes flavicans* (L) 152, 243, 252  
*Thamnia vernicularis* (L) 243
- Tillandsia capillaris* 243  
*Tillandsia usneoides* 243, 252  
*Trichilia* spp. 243  
*Tropaeolum majus* 243, 251
- Urtica dioica* 243  
*Usnea barbata* 243
- Verbena officinalis* 243  
*Viguiera lanceolata* 243  
*Vitis labrusca* 205  
*Vitis vinifera*, véase *uvas* 116, 206
- Xanthium spinosum* 243, 251  
*Xanthoria* spp. (L) 3, 152
- Zea mays* 83, 116, 243

*Colorantes Naturales*

Se terminó de imprimir en el mes de octubre de 1997  
en los talleres de Servicio Copias Gráficas S.A.  
(R.U.C. 10069912), Jr. Jorge Chávez 1059  
© 4249693, Lima, 5

## PUBLICACIONES RECIENTES

Juan Carlos Cortázar

*Secularización, cambio y continuidad en el catolicismo peruano.* 1997, 125 p.

Alicia del Aguila

*Callejones y mansiones.* 1997, 250 p.

Alan Fairlie

*Las relaciones Grupo Andino-Mercosur.* 1997, 166 p.

Teodor Harmsen y Paola Mayorca

*Diseño de estructuras de concreto armado.* 1997, 607 p.

Ana María Lorandi

*De quimeras, rebeliones y utopías.* 1997, 358 p.

Otto Leindinger

*Procesos industriales.* 1997, xvi + 284 p.

Rogelio Llerena

*Código de ética judicial.* 1997, 108 p.

Nelson Manrique

*La sociedad virtual y otros ensayos.* 1997, 282 p.

Jorge Marcone

*La oralidad escrita.* 1997, 294 p.

Carlos Ramos Núñez

*El código napoleónico.* 1997, 408 p.

Cecilia Thorne

*Piaget entre nosotros.* 1997, xvi + 272 p.

**O**lga Lock Sing de Ugaz es Profesora Principal del Departamento de Ciencias, Sección Química, de la Pontificia Universidad Católica del Perú.

Ingeniero Químico, egresada de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, con estudios de Maestría en Ciencias, con mención en Química Orgánica, en el Instituto Tecnológico y de Estudios Superiores de Monterrey, Nuevo León, México.

Desde hace muchos años, ha enfocado su interés en la investigación en productos naturales contenidos en plantas medicinales y en otras plantas de uso industrial.

Ha participado en numerosos eventos de química y de promoción de la investigación en productos naturales, tanto en el país como en el extranjero.

Es autora de la obra *Investigación fitoquímica. Métodos de estudio de productos naturales* (ediciones 1988 y 1994), y de diversas publicaciones científicas en revistas especializadas. Es coautora conjuntamente con otros 50 investigadores iberoamericanos de la obra *270 plantas medicinales de Iberoamérica*, editada por el Programa CYTED y SECAB en 1995.

Ha recibido Premios Nacionales CONCYTEC en 1989 y 1994, y el premio H.W. Kessel en 1993, por sus investigaciones en productos naturales.

Por las mismas razones ha merecido en 1996 el reconocimiento del Departamento de Ciencias de la PUCP.

