

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**



“Comprobación de la actividad tintorera en fibras orgánicas y  
sintéticas de la *Berberis hallii*.”

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE**

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**PRESENTADO POR**

**MARÍA GABRIELA SÁNCHEZ PUERTAS**

**RIOBAMBA – ECUADOR**

**2010**

## **DEDICATORIA**

*A mi Madre, por su comprensión y ayuda en momentos malos y menos malos. Quien me ha enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Me ha dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.*

*A todas las personas que hicieron posible este trabajo.*

## **AGRADECIMIENTO**

*A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.*

*A la Dra. Cumandá Játiva por su valiosa colaboración y asesoramiento en la dirección de la tesis.*

*A mi familia y amigas por sus diversas formas de apoyo.*

*A todas las personas que colaboraron de cualquier manera para la culminación de este trabajo de investigación*

# ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

## FACULTAD DE CIENCIAS

### ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “COMPROBACIÓN DE LA ACTIVIDAD TINTORERA EN FIBRAS ORGÁNICAS Y SINTÉTICAS DE LA *Berberis hallii*”, de responsabilidad del(a) señor(ita) egresado(a) María Gabriela Sánchez Puertas, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dra. Yolanda Díaz

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DECANA FACULTAD DE CIENCIAS**

Dr(a). Cumanda Játiva

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTOR(A) DE TESIS**

Msc. Simón Moreano

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**MIEMBRO DE TRIBUNAL**

Tlgo. Carlos Rodríguez

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

**DIRECTOR DEL CENTRO DE DOCUMENTACIÓN**

**NOTA DE TESIS ESCRITA**

\_\_\_\_\_

Yo, María Gabriela Sánchez Puertas, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

---

MARÍA GABRIELA SÁNCHEZ PUERTAS

## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

<b>Abs:</b>	Absorbancia
<b>B1:</b>	Banda 1
<b>B2:</b>	Banda 2
<b>B3:</b>	Banda 3
<b>B4:</b>	Banda 4
<b>B5:</b>	Banda 5
<b>H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>:</b>	Ácido sulfúrico
<b>cm:</b>	Centímetros
<b>CCf o TLC:</b>	Cromatografía en capa fina
<b>ETOH:</b>	Extracto etanólico
<b>°C:</b>	Grados Centígrados
<b>g:</b>	Gramos
<b>g/L:</b>	Gramos por litro
<b>g/ml:</b>	Gramos por mililitros
<b>NaOH:</b>	Hidróxido de sodio
<b>h:</b>	Horas
<b>λ:</b>	Longitud de onda
<b>λ<sub>máx</sub>:</b>	Longitud de onda máxima

<b>ml:</b>	Mililitros
<b>mm:</b>	Milímetros
<b>min:</b>	Minutos
<b>nm:</b>	Nanometros
<b>N:</b>	Normalidad
<b>pH:</b>	Peso de hidrógenos
<b>%:</b>	Porcentaje
<b>RL:</b>	Razón licor
<b>UV:</b>	Ultravioleta
<b>UV – vis:</b>	Ultravioleta visible
<b>IUPAC:</b>	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada

# ÍNDICE GENERAL

## Contenido

ÍNDICE DE ABREVIATURAS .....	i
ÍNDICE GENERAL .....	iii
ÍNDICE DE CUADROS .....	vii
ÍNDICE DE TABLAS .....	viii
ÍNDICE DE GRÁFICOS .....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS .....	x
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS .....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
INTRODUCCIÓN .....	xiii
1. MARCO TEÓRICO .....	1
1.1 <i>Berberis hallii</i> .....	1
1.1.1 NOMBRE COMÚN O VULGAR: .....	1
Carrasquilla, Chinia, Chivo, Espino, Espuela casha.....	1
1.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA .....	1
1.1.3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA .....	3
1.1.4 ORIGEN .....	3
1.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA .....	4
1.1.6 USO Y PROPIEDADES .....	7
1.1.6.1 Uso y Propiedades No Madereras según categoría: .....	7
1.1.6.2 Información Tecnológica de Silvicultura y Manejo: .....	8
1.1.6.3 Información Tecnológica del Procesamiento Artesanal y/o Industrial: .....	8
1.2 FIBRAS TEXTILES .....	9
1.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS TEXTILES .....	9
1.2.1.1 Según su origen .....	9
1.2.1.1.1. Origen Natural .....	9
1.2.1.1.2 Origen Artificial .....	10
1.2.1.1.3 Origen Sintético .....	10
1.2.2 MATERIALES TEXTILES .....	11
1.2.2.1. ALGODÓN .....	11
1.2.2.2 LANA .....	11



1.2.2.2.1 PROPIEDADES QUIMICAS: .....	12
1.2.2.3 POLIESTER .....	13
1.3 TEÑIDO .....	14
1.3.1 VARIABLES CRÍTICAS EN UN PROCESO DE TEÑIDO .....	15
1.3.2 COLORANTES .....	16
1.3.2.1 Clasificación de los Colorantes .....	16
1.3.2.1.1 Colorantes Naturales .....	16
1.3.2.1.2 Colorantes Artificiales .....	17
1.3.2.2 Exigencias a los Colorantes .....	18
1.3.2.2.1 Factores que afectan a la solidez: .....	18
1.3.2.2.2 Tipos de ensayos de solidez: .....	18
1.4 MORDIENTES .....	19
1.5 MUESTREO, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.....	20
1.5.1 Muestreo .....	20
1.5.2 Transporte y conservación.....	20
1.5.3 Limpieza y descontaminación .....	20
1.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO .....	21
1.6.1 EXTRACCIÓN DE MATERIAS PRIMAS VEGETALES.....	21
1.6.1.2 Extracción: .....	22
1.7 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA .....	22
1.7.1 DEFINICIÓN DE CROMATOGRAFÍA. ....	22
1.7.2 CONCEPTO DE Rf.....	22
1.7.3 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA. (CCf o TLC) .....	23
1.7.3.1 Eluyentes más comunes para cromatografía en capa fina.(12) .....	23
1.7.3.2 Reveladores más comunes para cromatografía en capa fina .....	24
1.7.3.3 Adsorbentes más comunes para Cromatografía en Capa Fina.(12) .....	24
1.7.4 Factores que influyen en una separación por Cromatografía de Capa Fina. .	25
1.8 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO .....	25
1.8.1 ESPECTROMETRÍA .....	25
1.8.2 ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE .....	26
1.8.2.1 APLICACIONES .....	26
1.8.3 ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA-VISIBLE .....	27
1.8.5 ESPECTRO ULTRAVIOLETA-VISIBLE.....	27
2. PARTE EXPERIMENTAL.....	30
2.1 LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO.....	30

2.2 RECURSOS MATERIALES .....	30
2.2.1 MATERIA PRIMA .....	30
2.2.2 EQUIPOS .....	31
2.2.3 MATERIALES DE LABORATORIO.....	31
2.2.4 REACTIVOS.....	33
2.3 FACTORES DE ESTUDIO .....	34
2.4 UNIDAD EXPERIMENTAL O DE ANÁLISIS .....	34
2.5 MÉTODOS Y TÉCNICAS .....	35
2.5.1 OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA .....	35
2.5.1.1 Muestreo .....	35
2.5.1.2 Recolección .....	35
2.5.1.3 Limpieza y descontaminación .....	36
2.5.2 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS .....	36
2.5.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE RAÍZ Y FRUTOS DE <i>Berberis hallii</i> .....	37
2.5.3.1 Ensayo del Cloruro Férrico.....	37
2.5.3.2 Ensayo de Shinoda.....	37
2.5.3.3 Ensayo de Antocianidinas.....	38
2.5.3.4 Ensayo de Fehling.....	38
2.5.4 CONDICIONES ÓPTIMAS DE TEÑIDO .....	38
2.5.4.1 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA.....	38
2.5.4.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO DE TINTURA .....	39
2.5.4.3. DETERMINACIÓN DE pH.....	40
2.5.4.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL BAÑO AGOTADO.....	40
2.5.4.5 DETERMINACIÓN DE LA RAZÓN LICOR ÓPTIMA.....	41
2.5.4.6 APLICACIÓN DE MORDIENTES.....	42
2.5.4.6.1 MÉTODO PARA EL MORDIENTE ANTERIOR.....	42
2.5.4.6.2 MÉTODO PARA EL MORDENTADO POSTERIOR .....	42
2.5.4.7 DETERMINACIÓN DE LA SOLIDEZ .....	43
2.5.4.7.1 SOLIDEZ A LA HUMEDAD .....	43
2.5.4.7.2 SOLIDEZ A LA EBULLICIÓN .....	44
2.5.4.7.3 SOLIDEZ AL LAVADO .....	44
2.5.4.7.4 SOLIDEZ A LOS ÁCIDOS .....	45
2.5.4.7.5 SOLIDEZ A LAS BASES.....	45
2.5.4.7.6 SOLIDEZ A LOS ÓXIDANTES .....	45

2.5.4.7.7 SOLIDEZ AL FROTE .....	46
2.5.4.7.8 SOLIDEZ A LA LUZ .....	46
2.5.4.7.9 SOLIDEZ AL HIPOCLORITO .....	47
2.5.5 EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES .....	47
2.5.6 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA .....	50
2.5.6.1 Preparación de placas cromatográficas preparativas .....	50
2.5.6.2 Colocación de muestra de alcaloides sobre la placa Cromatográfica.....	50
2.5.6.3 Revelado Cromatográfico.....	51
2.5.6.4 Separación de manchas reveladas en la Cromatografía.....	53
2.5.6.5 Separación de las bandas de la Sílica-gel .....	54
2.5.6.6 Lectura en el Espectrofotómetro de las bandas .....	54
2.5.7 APLICACIÓN DE LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES .....	55
3.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	65
3.1.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES .....	65
3.1.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE TEÑIDO .....	66
3.1.2.1 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA.....	66
3.1.2.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO DE TINTURA .....	67
3.1.2.3 DETERMINACIÓN DE pH.....	68
3.1.2.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL BAÑO AGOTADO. ....	69
3.1.2.5 DETERMINACIÓN DE LA RAZÓN LICOR ÓPTIMA. ....	71
3.1.2.6 APLICACIÓN DE MORDIENTES .....	73
3.1.3 DETERMINACIÓN DE LA SOLIDEZ.....	79
3.1.3 TEÑIDO DE LAS FIBRAS APLICANDO EL SUBEXTRACTO DE FLAVONOIDES .....	82
3.1.3 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA A PARTIR DEL SUBEXTRACTO ETANÓLICO DE FLAVONOIDES .....	83
3.1.4 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LAS CINCO BANDAS.....	84
3.1.5 DETERMINACIÓN DE LOS FLAVONOIDES POR MEDIO DE WOODARD – FIESER.....	85
CONCLUSIONES.....	88
RECOMENDACIONES .....	90
RESUMEN .....	91
SUMARY .....	92
BIBLIOGRAFÍA .....	93
ANEXOS .....	96

## ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1: Clasificación Científica	22
CUADRO N°2: Colorantes Naturales	35
CUADRO N°3: Colorantes Flavonoides	36
CUADRO N° 4: Colorantes artificiales	36
CUADRO N° 5: Planta y lugar de procedencia, sustancias a identificarse.	54
CUADRO N° 6: Datos obtenidos en la Cromatografía de capa fina del sub-extracto etanólico de <i>Berberis halliii</i>	72
CUADRO N° 7: Determinación Ultravioleta de las bandas aisladas en el Sub-extracto etanólico	74
CUADRO N° 8: Tamizaje fitoquímico para identificar Flavonoides	84
CUADRO N° 9: Determinación de la solidez a la Humedad, Ebullición, Lavado, Frote y Luz del extracto de la raíz de <i>Berberis halliii</i> .	98
CUADRO N° 10: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> en Ácidos con concentración de 0.5-0.01N.	99
CUADRO N° 11: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> en Bases con concentración de 0.5-0.01N.	99
CUADRO N° 12: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> en Oxidantes con concentración de 0.5-0.01N.	100
CUADRO N° 13: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> a Hipoclorito de sodio con concentración de 0.5-0.01N.	100
CUADRO N° 14: Lecturas en Espectrofotómetro (UV) de las bandas del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> .	104
CUADRO N° 15: Identificación de los Flavonoides presentes en las cinco Bandas del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> .	105

## ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Determinación de la Temperatura óptima del extracto de raíces y frutos de <i>Berberis hallii</i> .	85
TABLA N° 2: Determinación del Tiempo óptima del extracto de raíces y frutos de <i>Berberis hallii</i> .	86
TABLA N° 3: Determinación de pH óptimo del extracto de raíces de <i>Berberis hallii</i> .	87
TABLA N° 4: Concentración del Baño Agotado del extracto de la raíces de <i>Berberis hallii</i> .	88
TABLA N° 5: Concentración del Baño Agotado del extracto de los frutos de <i>Berberis hallii</i> .	89
TABLA N° 6: Determinación de la Razón Licor del extracto de la raíz de <i>Berberis hallii</i> .	90
TABLA N° 7: Determinación de la Razón Licor del extracto de la frutos de <i>Berberis hallii</i> .	91
TABLA N° 8: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Anterior con el extracto de las raíces de <i>Berberis hallii</i> .	92
TABLA N° 9: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Posterior con el extracto de las raíces de <i>Berberis hallii</i> .	94
TABLA N° 10: Teñido por Mordentado Anterior del extracto de los frutos de <i>Berberis hallii</i> , usando alumbre como mordiente	96
TABLA N° 11: Teñido por Mordentado Posterior del extracto de los frutos de <i>Berberis hallii</i> , usando alumbre como mordiente.	97
TABLA N° 12: Teñido de Fibras con el Sub-extracto de Flavonoides del extracto de raíces de <i>Berberis hallii</i> por mordentado anterior y posterior con alumbre de mordiente.	101
TABLA N°13: Determinación de los Rf en la cromatografía en capa fina del extracto de raíces de <i>Berberis hallii</i> .	103

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N°1: Determinación de la Temperatura óptima	115
GRÁFICO N°2 Determinación del Tiempo óptimo	115
GRÁFICO N°3 Determinación del pH relacionado al tiempo	116
GRÁFICO N°4 Concentración del Baño Agotado del extracto de raíces de <i>Berberis hallii</i> .	116
GRÁFICO N°5 Concentración del Baño Agotado del extracto de fruto de <i>Berberis hallii</i> .	117
GRÁFICO N° 6: Determinación de la Razón Licor del extracto de la raíz de <i>Berberis hallii</i> .	90
GRÁFICO N°7: Determinación de la Razón Licor del extracto de la frutos de <i>Berberis hallii</i> .	91
GRÁFICO N° 8: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Anterior con el extracto de las raíces de <i>Berberis hallii</i> .	117
GRÁFICO N° 9: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Posterior con el extracto de las raíces de <i>Berberis hallii</i> .	118

## ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1. Estructura química de antocianinas	24
FIGURA N°2. Estructuras química de flavonoides	25
FIGURA N° 3. Estructura química de la Queratina	31
FIGURA N°4. Estructura química del poliéster	32
FIGURA N°5: Fraccionamiento del extracto de raíz de <i>Berberis hallii</i> y obtención de Flavonoides	68
FIGURA N° 6: Cromatografía de Capara fina para identificar flavonoides del sub-extracto etanólico de <i>Berberis hallii</i>	72
FIGURA N°7: Cromatografía en Capa fina con sus respectivos Rf del extracto de raíces <i>Berberis hallii</i>	102

## ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N°1. <i>Berberis hallii</i>	20
FOTOGRAFÍA N° 2 Descripción Botánica de <i>Berberis hallii</i>	21
FOTOGRAFÍA N°3: Cromatografía en capa fina del sub-extracto etanólico de <i>Berberis hallii</i>	70
FOTOGRAFÍA N° 4: Revelado cromatográfico con sulfato de cerio	71
FOTOGRAFÍA N°5: Fibras teñidas con alumbre de mordiente por mordentado anterior.	93
FOTOGRAFÍA N°6: Fibras teñidas con sulfato ferroso de mordiente por mordentado anterior.	93
FOTOGRAFÍA N°7: Fibras teñidas con dicromato de potasio de mordiente por mordentado anterior.	93
FOTOGRAFÍA N°8: Fibras teñidas con alumbre de mordiente por mordentado posterior.	95
FOTOGRAFÍA N°9: Fibras teñidas con sulfato ferroso de mordiente por mordentado posterior.	95
FOTOGRAFÍA N°10: Fibras teñidas con dicromato de potasio de mordiente por mordentado posterior.	95
FOTOGRAFÍA N°11: Fibras teñidas con extracto de los frutos por mordentado anterior.	96
FOTOGRAFÍA N°12: Fibras teñidas con extracto de los frutos por mordentado posterior.	97



## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: GRÁFICO N°1: Determinación de la Temperatura óptima	115
Anexo 2: GRÁFICO N°2 Determinación del Tiempo óptimo	115
Anexo 3. GRÁFICO N°3 Determinación del pH relacionado al tiempo	116
Anexo 4. GRÁFICO N°4 Concentración del Baño Agotado del extracto de raíces de <i>Berberis halliii</i> .	116
Anexo 5. GRÁFICO N°5 Concentración del Baño Agotado del extracto de fruto de <i>Berberis halliii</i> .	117
Anexo 6: GRÁFICO N° 9: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Anterior con el extracto de las raíces de <i>Berberis halliii</i> .	117
Anexo 7: GRÁFICO N° 9: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Posterior con el extracto de las raíces de <i>Berberis halliii</i> .	118
Anexo 8. Tablas de las Reglas de Woodward y Fieser.	119
Anexo 9: Cartilla de colores. Cartilla de colores textiles	122

## INTRODUCCIÓN

La aplicación y utilización de principios tintóreos, a partir del empleo de vegetales o colorantes de origen mineral o animal, se remonta a épocas muy antiguas de la humanidad.

De las plantas se han aprovechado todas sus partes: semillas, flores, ramas, frutos, cortezas y raíces. Obtener color a través de ellas ha resultado ser una experiencia maravillosa y llena de sorpresas.

Su importancia en la industria textil se ha incrementado debido a su Biodegradabilidad y baja toxicidad, por lo que son empleados para el teñido de fibras tanto naturales como sintéticas. Los tejidos de lana son ampliamente usados por ser flexibles, elásticos, y absorbentes, estas particularidades le permite ser utilizada preferentemente como fibra textil.

En Sur América se encuentra una gran variedad de flora, entre ella del género *Berberis* que encontramos alrededor de 178 especies distribuidas desde Venezuela hasta las pampas de Chile; en los páramos las diferentes variedades de *Berberis* han sufrido notable cambio, especialmente en Ecuador y Colombia. (4)

En el Ecuador están representadas 32 especies: *Berberis chillacochensis* Camargo, *B. chimboensis* C. Schneider, *B. conferta* H.B.K., *B. engleriana* C. Schneider, *B. farinosa* Benoist, *B. glauca* Kunth, *B. grandiflora* Turcz., *B. hallii* Benoist, *B. hirtellipes* Ahrendt, *B. hyperythra* Diels, *B. jamesonii* Lindley, *B. laidivo* Camargo, *B. lechleriana* C. Schneider, *B. lehmannii* Hieron., *B. lobbiana* C. Schneider, *B. loxensis* Benth., *B. lutea* Ruiz & Pavón, *B. minzaensis* Camargo, *B. multiflora* Benth., *B. paniculata* Juss., *B. papillosa* Ahrendt, *B. pectinata* Hieron., *B. pichinchensis* Turcz., *B. pindilicensis* Hieron., *B. quinduensis* H.B.K., *B. reicheana* C. Schneider, *B. retinervia* Triana &

*Planchon*, *B. rigida Hieron.*, *B. saxorum Ahrendt*, *B. schwerinii C. Schneider*, *B. spruceana (C. Schneider) Ahrendt* y *B. warszewiczii Hieron.*, todas sobre los 2000 m y especialmente en el subpáramo. (3)

La especie *Berberis hallii* es un arbusto que se encuentra a 2500 – 3000 metros en los Andes; localizada en los páramos de Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Pichincha, y Tungurahua.(3)

Lo más interesante del arbusto es el principio colorante amarillo que contiene su raíz y corteza y que tiene la propiedad de adherirse a la fibra. Este principio colorante ha sido químicamente definido como Berberina.(4)

Al encontrarnos en una era ecológica la importancia del uso de fibras y colorantes naturales ha cobrado espacio; además, el obtener la materia colorante de la raíz y de los frutos de *Berberis* motivó para la realización del presente trabajo de investigación obteniendo una gama de colores, también que tiene por objeto comprobar la actividad colorante de la *Berberis hallii* en la industria de la hilandería, así como también los parámetros más importantes para un proceso de teñido con colorantes naturales, como las condiciones óptimas de temperatura, tiempo, pH, concentración, razón licor.

Para determinar el grado de fijación del colorante en las fibras orgánicas y sintéticas se realizaron pruebas de solidez de la fibra teñida.

En este trabajo además se pretende demostrar que los flavonoides identificados en planta (*Berberis hallii*) con tamizaje fitoquímico tienen la propiedad tintórea, para ello se obtuvo un sub-extracto y se realizaron pruebas de teñido en lana, algodón y/o perlón obteniendo buenos resultados; también se separó, purificó e identificó los flavonoides mediante cromatografía de capa fina y análisis espectroscópicos (UV) del sub-extracto que tiñó.

# CAPÍTULO I

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 *Berberis hallii*



FOTOGRAFÍA N°1. *Berberis hallii* (<http://tobiastravels.blogspot.com>)

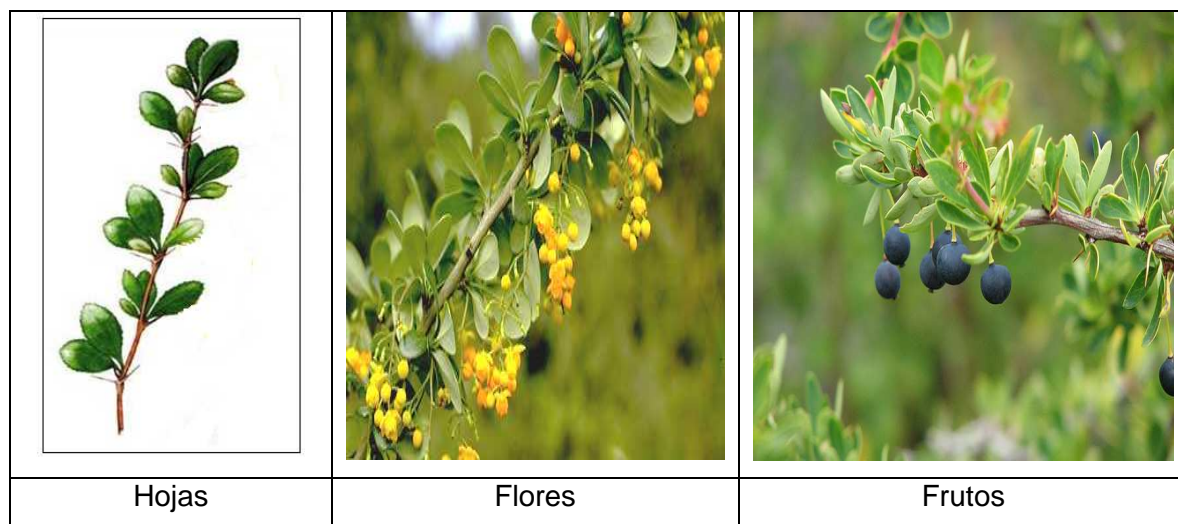
#### 1.1.1 NOMBRE COMÚN O VULGAR:

Carrasquilla, Chinia, Chivo, Espino, Espuela casha.

#### 1.1.2 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es un arbusto denso armado de espinos simples o triples. Tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 3 m de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza.(1)

Las hojas son ovales, alternas, con peciolo corto de unos 3 cm de longitud. Presentan una gradación desde hojas hasta espinas, de forma que las de más de un año se van transformando en espinas con un largo de 2 y 15cm. (1)



FOTOGRAFÍA N°2: Descripción Botánica de *Berberis hallii* ([www.mtplantas.com](http://www.mtplantas.com))

Las flores aparecen entre abril y junio, son pequeñas y amarillas, agrupadas en pequeños racimos colgantes. (1)

Los frutos es posible encontrarlos entre los mese de mayo y junio, son bayas de 5 a 15 mm de longitud de color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro, son ácidas pero de sabor agradable ricas en vitamina C y antocianinas. (Landrum, 1999).(4)

Su hábitat natural es el clima continental de montaña; nace de forma natural en espinares, zonas abiertas, lindes de los campos y suelos calizos y pedregosos.(4)

### 1.1.3 CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

CUADRO N °1: Clasificación científica

Clasificación científica	
Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Ranunculales
Familia:	Berberidaceae
Subfamilia:	Berberidoideae
Tribu:	Berberideae
Subtribu:	Berberidinae
Género:	<i>Berberis</i>
Especie:	<i>B. halli</i>

Fuente: [www.infojardin.net/.../plantas.../berberis-vulgaris.htm](http://www.infojardin.net/.../plantas.../berberis-vulgaris.htm)

### 1.1.4 ORIGEN

El género ***Berberis*** consta de más de 500 especies ampliamente distribuidas, pero mejor representadas en los Himalayas, el oeste de China y en los Andes. En el Ecuador están representadas 32 especies: *Berberis chillacochensis* Camargo, *B. chimboensis* C. Schneider, *B. conferta* H.B.K., *B. engleriana* C. Schneider, *B. farinosa* Benoist, *B. glauca* Kunth, *B. grandiflora* Turcz., *B. hallii* Benoist, *B. hirtellipes* Ahrendt, *B. hyperythra* Diels, *B. jamesonii* Lindley, *B. laidivo* Camargo, *B. lechleriana* C. Schneider, *B. lehmannii* Hieron., *B. lobbiana* C. Schneider, *B. loxensis* Benth., *B. lutea* Ruiz & Pavón, *B. minzaensis* Camargo, *B. multiflora* Benth., *B. paniculata* Juss., *B. papillosa* Ahrendt, *B. pectinata* Hieron., *B. pichinchensis* Turcz., *B. pindilicensis* Hieron., *B. quinduensis*

*H.B.K., B. reicheana C. Schneider, B. retinervia Triana & Planchon, B. rigida Hieron., B. saxorum Ahrendt, B. schwerinii C. Schneider, B. spruceana (C. Schneider) Ahrendt y B. warszewiczii Hieron.*, todas sobre los 2000 m y especialmente en el subpáramo.(3)

***Berberis hallii*** “Carrasquilla” es endémica de la zona centro y sur de Ecuador, localizada en los páramos de Carchi, Chimborazo, Cotopaxi, Imbabura, Pichincha, y Tungurahua.(3)

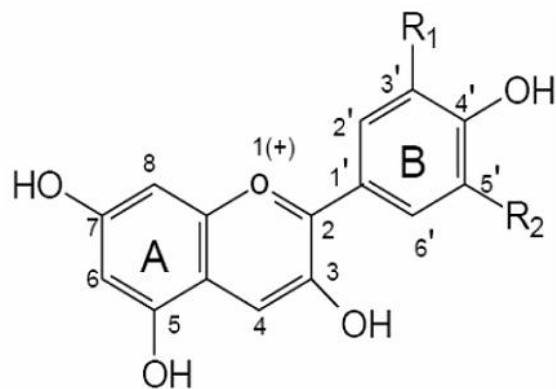
### 1.1.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA

Contiene alcaloides derivados de la isoquinolina: berberina (3%), oxicanina (1.5%) también contiene taninos y saponinas.(4)

Lo más interesante en este arbusto es el principio colorante amarillo que contiene su raíz y corteza y que tiene la propiedad de adherirse a la fibra. Este principio colorante ha sido químicamente definido como Berberina. (4)

Los indios del Perú usan este principio colorante para teñir los ponchos, capas y fajas que fabrican sin necesidad de mordiente. Además ha sido utilizado para teñir pieles, por su intenso color amarillo.(5)

La composición química de los frutos reporta que contienen glucosa, fructosa, ácido málico, pectina, vitamina c, además contiene antocianinas que le otorgan colores rojos, morados, en sus frutos. Las antocianinas presentes en los frutos están delfinidina-3glucósido, cianidina-3glucósido, petunidina-3glucósido, peonidina-3glucósido, malvidina-3glucósido.(29)



Aglicona	Substitución		$\lambda_{max}$ (nm) espectro visible
	R1	R2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

FIGURA N°. Estructura química de antocianinas (www .cannabiscave.net/foros)

El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorantes naturales y por sus potenciales beneficios en la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que posee actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, anti-inflamatoria y hepatoprotectora. (30)

Según estudios realizados por V. Vereskovskii y D. Shapiro manifiesta que en el género *Berberis* se encuentran presentes flavonoides como quercetina, kaempferol, apigenina y luteolina.(17)



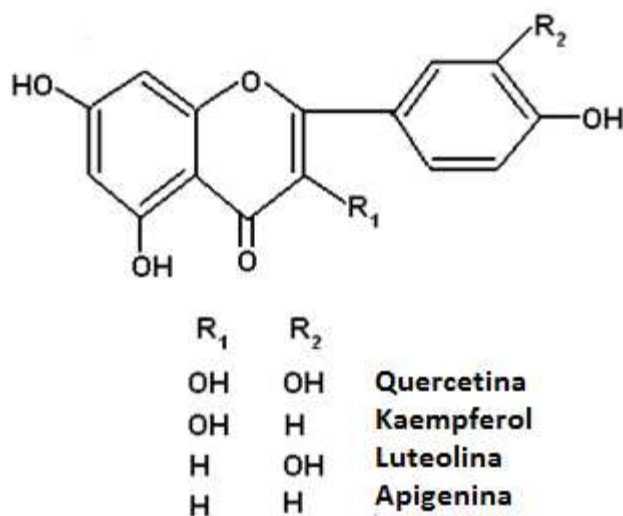


FIGURA N<sup>o</sup>2. Estructuras química de flavonoides (www .mpancz.webpark)

Se define a flavonoide del latín flavus, "amarillo", es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Son sintetizados a partir de una molécula de fenilalanina y 3 de malonil-CoA, a través de lo que se conoce como "vía biosintética de los flavonoides", cuyo producto, la estructura base, se cicla gracias a una enzima isomerasa.(16)

La estructura base de un flavonoide indica la presencia de un esqueleto C6-C3-C6, puede sufrir posteriormente muchas modificaciones y adiciones de grupos funcionales, por lo que los flavonoides son una familia muy diversa de compuestos, aunque todos los productos finales se caracterizan por ser polifenólicos y solubles en agua. Los flavonoides que conservan su esqueleto pueden clasificarse, según las isomerizaciones y los grupos funcionales que les son adicionados, en 6 clases principales: las chalconas, las flavonas, los flavonoles, los flavandioles, las antocianinas, y los taninos condensados más una séptima clase, las auronas. También el esqueleto puede sufrir modificaciones, convirtiéndose entonces en el esqueleto de los isoflavonoides o el de los neoflavonoides, que por lo tanto también son derivados de los flavonoides.(16)

Los flavonoides se biosintetizan en todas las plantas, que aunque comparten la vía biosintética central, poseen una gran variabilidad en la composición química de sus productos finales y en los mecanismos de regulación de su biosíntesis, por lo que la composición y concentración de flavonoides es muy variable entre especies y en

respuesta al ambiente. Los flavonoides son sintetizados en el citoplasma y luego migran hacia su destino final en las vacuolas celulares.(16)

## 1.1.6 USO Y PROPIEDADES

### 1.1.6.1 Uso y Propiedades No Madereras según categoría:

*Fruto Comestible:* El fruto es una baya comestible de color negro y brillante. Éstas se pueden consumir frescas, en mermeladas, en jaleas y jarabes.(5)

*Ornamental:* Arbusto espinoso de 1 a 2 m de altura. Hojas agrupadas en rosetas, de tamaños muy variables. Las espinas de color amarillento, se presentan reunidas de a tres y llegan a medir 3 cm de longitud. Flores solitarias de color amarillo anaranjado, largamente pedunculadas que nacen del centro de cada roseta, su floración ocurre en septiembre. Recomendable para plazas y jardines. (5)

*Tintóreo:* Su madera, corteza y raíces contienen berberina, lo que le otorga propiedades tintóreas, obteniéndose un color amarillo en el proceso de teñido. Al cortar las raíces fluye de ellas un líquido amarillo que tiñe las manos y el papel en frío. (5)

Artesanalmente quitan la corteza verde y sólo guardan la madera amarilla, la desmenuzan y la hacen hervir durante una hora. La lana sumergida en la tintura y llevada a ebullición durante diez minutos guarda un hermoso color amarillo dorado. Al mezclar fragmentos de corteza y hojas con las fibras leñosas preparan otra tinta de un tono verde brillante. (5)

*Medicinal:* En medicina popular se le asignan propiedades medicinales como antidiarreico, febrífugo y antiséptico. (5)

#### 1.1.6.2 Información Tecnológica de Silvicultura y Manejo:

*Fruto Comestible:* La época de colecta del fruto se produce desde diciembre hasta marzo, esta época depende directamente de la distribución geográfica, siendo más temprana la colecta mientras más al norte se encuentre el recurso. (5)

*Ornamental:* Especie ideal para lugares soleados y secos, requiere poco riego, es resistente a la nieve y en condiciones naturales requiere precipitaciones anuales de 800 a 3000 mm. Su época de siembra corresponde al otoño, posee un bajo porcentaje de capacidad germinativa la que alcanza un 25%. En relación a sus técnicas de plantación se recomienda plantarla sola o como planta individual y no en grupos. (5)

#### 1.1.6.3 Información Tecnológica del Procesamiento Artesanal y/o Industrial:

No existe información relacionada con los procesos tecnológicos para la industrialización o venta de esta especie como Fruto Comestible ni medicinal. (5)

*Tintórea:* A continuación se presentan las técnicas generales de extracción de tintes de especies vegetales. (5)

A nivel artesanal el proceso empleado para la obtención del tinte se puede resumir en las siguientes etapas: (5)

- Trozado
- Molienda y macerado
- Remojo
- Hervido
- Colado (en los líquidos colados, están las sustancias tintóreas)
- Conservación del tinte.

Una vez extraído el tinte, se cuela y se guarda en envases cerrados, en lugar fresco hasta su utilización. Si con el transcurrir del tiempo se observa la presencia de hongos en la

superficie del líquido, el tinte igualmente puede usarse luego de la eliminación de los contaminantes. (5)

La conservación del agua durante todo el proceso, es tan importante en la preparación del tinte como lo es el manejo del material tintóreo, recomendándose la reutilización de los baños de teñido y las aguas de los enjuagues para volver a macerar nuevos tintes. (5)

## **1.2 FIBRAS TEXTILES**

Fibra es cada uno de los filamentos que, dispuestos en haces, entran en la composición de los hilos y tejidos, ya sean minerales, artificiales, vegetales o animales; fibra textil es la unidad de materia de todo textil.(2)

### **1.2.1 CLASIFICACIÓN DE LAS FIBRAS TEXTILES**

La clasificación concreta de las fibras textiles se dividen en dos áreas: 1) Las de origen natural (entre estas la vegetal, animal y mineral) y 2) las sintéticas (poliésteres (PES)).(21)

#### **1.2.1.1 Según su origen**

##### **1.2.1.1.1. Origen Natural**

- a) **Origen Animal:** generalmente Proteicas, su sustancia fundamental y característica es la albúmina. Arden con la llama viva desprendiendo un olor característico a cuerno quemado y dejando cenizas oscuras. (21)
  - **Lana:** Merino, Corriedale, Lincoln, Romey Marsh.
  - **Pelos:** Cabra, Camélidos, Angora.
  - **Seda:** Bombix Mori, Tussah.

b) **Origen Vegetal:** generalmente Celulósicas. Son monocelulares (como el algodón), o se componen de haces de células (como el lino, cáñamo, yute, etc.). Arden con llama luminosa despidiendo un olor característico a papel quemado y dejando cenizas blanquecinas en pequeña cantidad. (21)

- **Fruto:** Algodón, Coco, Kapoc.
- **Tallo:** Lino, Yute, Cáñamo, Ramio.
- **Hoja:** Henequén o Sisal, Formio, Abacá, Esparto.
- **Raíz:** Agave Tequilana.

c) **Minerales:** generalmente inorgánicas Amianto, Asbesto, fibra de vidrio, fibra cerámica.

El uso del amianto se ha prohibido debido al reciente descubrimiento que demuestra que su manipulación provoca leucemias y cánceres.(21)

#### 1.2.1.1.2 Origen Artificial

Utilizan para su creación un componente natural son artificiales (celulosa). (21)

- **Proteicas:** Caseína, Lanital.
- **Celulósicas:** Rayón Viscosa y Tencel, Rayón acetato, Rayón Cuproamonio, Rayón Nitrocelulosa, Rayón Triacetato.
- **Minerales:** Fibra de vidrio, Hilo metálico.

#### 1.2.1.1.3 Origen Sintético

No utilizan componentes naturales, son enteramente químicos. (21)

- **Monocomponentes:** Poliamida, Fibras Poliéster, Poliacrílico, Fibras Modacrílicas, Fibras Olefínicas, Fibras Spandex, Fibras Aramílicas.
- **Bicomponentes:** Fibras Poliéster, Fibras Acrílicas, Fibras Olefínicas, Fibras Poliamídica.
- **Microfibras:** Fibras Poliamídicas, Fibras Poliéster, Fibras Acrílicas.

## 1.2.2 MATERIALES TEXTILES

### 1.2.2.1. ALGODÓN

El algodón es la fibra que forma el vello que cubre la semilla del algodónero, planta dicotiledónea de la familia de las malváceas, género "*Gossypium*".(22)

La fibra celulósica su unidad química o monómero es la glucosa (C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>). Es una fibra hidrofílica, se carga negativamente cuando está en agua y penetra por los espacios interfibrilares y la hincha. (22)

Los Ácidos minerales la atacan como el ácido Sulfúrico al 70% que la disuelve, los Ácidos diluidos no la atacan, por esto se utilizan éstos Ácidos cuando se necesitan neutralizar pH básicos en procesos que se le han hecho a la fibra de algodón. (22)

Si la fibra tratada con Ácidos débiles se deja en el tiempo y no se neutraliza puede darle hidrocelulosa que es disminución de la resistencia de la fibra y puede llegar hasta producir rotos. (22)

El algodón es resistente a los solventes, en el trabajo con agentes oxidantes como el Peróxido de Hidrogeno, Hipoclorito de Sodio, Permanganato de Potasio, entre otros; hay que tener un control estricto de la temperatura y pH. Además que el agua no tenga dureza alta y no exista presencia de metales como el Manganeso y el Hierro ya que se puede producir Oxixelulosa que es también deterioro de la fibra. (22)

### 1.2.2.2 LANA

La fibra de lana es una proteína llamada queratina que contiene 18 aminoácidos, su estructura morfológica está compuesta por escamas y posee una zona medular que es la que durante el proceso de tintura realmente tiñe. (22)

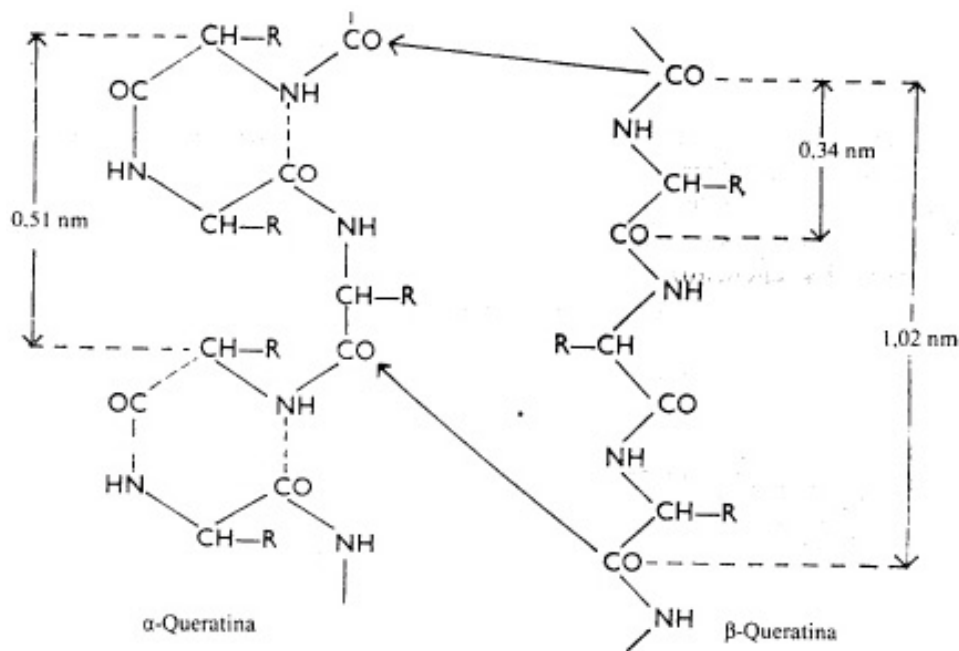


FIGURA N°3. Estructura química de la Queratina

Es una fibra muy delicada frente a la temperatura ya que como es una fibra proteínica la temperatura la descompone además contiene grasas y ceras como lanolina y soporta pH hasta 8. (22)

#### 1.2.2.2.1 PROPIEDADES QUIMICAS:

- Resiste con mucha facilidad a los ácidos concentrados a no ser que tengan un pH de 2.5, o estar sometido a temperaturas muy altas y también la permanencia durante periodos largos en el ácido.
- No es resistente a los álcalis ya que estos lo degradan y se utilizan para su identificación.
- No es recomendable tratarlos con oxidantes como el peróxido ya que estos degradan la lana.
- Es muy resistente a los solventes hasta el punto que para su lavado se utiliza el perclorohetileno.
- Para realizar un lavado en casa y evitar su alto porcentaje de encogimiento se pueden retirar las escamas con cloro.

- El blanqueo en la lana es poco perdurable. (22)

Su teñido se hace con colorantes ácidos de igualación que se tiñen a un pH de 3.5 ya que tienen afinidad por las fibras proteínicas y poliamidas. La aplicación de los colorantes ácidos a la lana consiste simplemente en sumergir durante un tiempo determinado en solución acidulada e hirviendo el colorante. (22)

### 1.2.2.3 POLIESTER

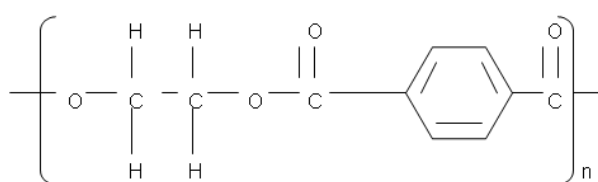


FIGURA N<sup>4</sup>. Estructura química del poliéster (www.galeon.com)

El poliéster (C<sub>10</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub>) es un polímero de un éster que se obtiene por condensación de diácidos orgánicos con polialcoholes.

La fibra de poliéster comercial conocida como Terylene o Dacrón es el producto de la condensación de Etilenglicol y Ácido Tereftálico. (22)

Desde el punto de vista textil es lógico que nos interesen aquellos polímeros hilables que presenten posibilidades de formar fibras. Las propiedades físicas y químicas de una fibra dependen no sólo de la estructura química de la molécula sino también de la textura (forma física) sobre la cual está elaborada la fibra. (22)

Para el teñido de poliéster se tiene en cuenta propiedades químicas como: Es resistente a los ácidos, los álcalis fuertes degradan la fibra saponificándola a altas temperaturas, las fibras son resistentes al ataque de los ácidos y no se bloquean sino están en mezcla porque la fibra es blanca, no resisten la acción de álcalis débiles, se puede teñir en cable de hilatura es decir desde la fibra misma. (22)



El poliéster debido a sus temperaturas de transición es susceptible de prefijar antes de teñirlo para mejorar la estabilidad dimensional y la tendencia al arrugado. Se usan temperaturas de 210 °C durante 30 segundos bajo tensión. La resistencia térmica mayor de 200. (Punto de fusión 250-260 °C) (22)

El poliéster tiene afinidad tintórea con colorantes dispersos y colorantes micro-dispersos.

### **1.3 TEÑIDO**

El teñido es la operación más compleja de todo el procesamiento húmedo. Se lleva a cabo fundamentalmente por razones de estética en la medida en que no contribuye a la integridad básica estructural, la capacidad de desgaste o la durabilidad del producto final. Sin embargo, desempeña un papel importante en la comercialización de los productos textiles. (19)

La función del teñido es la de fijar moléculas de la materia colorante en las fibras textiles. El color observado es el resultado de las ondas de luz absorbidas y reflejadas por las materias colorantes. A continuación se discuten los métodos de teñido, los tipos de colorantes y los compuestos químicos auxiliares empleados en el teñido, así como los tipos de equipo disponible y en uso para la aplicación de los tintes. (19)

Los mecanismos de teñido de las fibras textiles pueden resumirse de la siguiente manera:

- Migración del tinte de la solución a la interfase, acompañada de absorción en la superficie de la fibra.
- Difusión del tinte de la superficie hacia el centro de la fibra.
- Fijación de las moléculas del tinte mediante adhesiones covalentes o de hidrógeno o mediante otras fuerzas físicas.

La interfase tinte/fibra depende del tipo de equipo utilizado, mientras que las fórmulas específicas de teñido proporcionan las condiciones químicas para que se produzca la adhesión. El teñido se puede llevar a cabo mientras los artículos (fibra) están en forma de

materia prima, cinta peinada (lana o mezclas de lana), hebra o tejido. Se puede teñir tanto los tejidos de una o múltiples fibras, aunque el teñido de fibras múltiples puede requerir también múltiples pasos.(19)

### 1.3.1 VARIABLES CRÍTICAS EN UN PROCESO DE TEÑIDO

- **Temperatura de tintura:** La difusión de cualquier sustancia y en este caso de las moléculas del colorante, depende en gran parte de la temperatura. Cuando ésta es elevada la movilidad y energía de las moléculas se incrementa favoreciendo la migración del color a las fibras y facilitando el paso de las partículas colorantes del baño al tejido. (31)
- **Tiempo de tintura:** El tiempo de tintura es el tiempo de interacción entre la sustancia colorante y la fibra a teñir. Es el periodo necesario para lograr la migración de las moléculas colorantes a las fibras hasta llegar a un estado de equilibrio o una captación total del color. (31)
- **pH de baño tintóreo:** El valor del pH del baño es un factor determinante en el buen resultado del proceso y en el color resultante que adquieren las telas. La condición de acidez, neutralidad o basicidad establece la conducta del colorante dentro del proceso tintóreo, pues influye directamente en la capacidad de tinción, en la intensidad y en la variación del color. El rango utilizado para los procesos de tintura va desde un pH = 2 hasta pH = 12. A un pH fuertemente ácido (iguales o menores que 1) se da ausencia del fenómeno de hidratación. (31)
- **Tiempo de mordentado.** Es el tiempo de interacción entre el mordiente y la fibra con el fin de prepararla y / o fijar el color sobre ella, según su aplicación. (31)
- **Temperatura de baño mordiente.** Es la temperatura a la que se aplica el baño mordiente para la preparación y / o fijación del color por parte de las partículas. (31)

### 1.3.2 COLORANTES

Se da este nombre a sustancias coloreadas, las cuales son capaces de teñir las fibras vegetales y animales.

Para que un colorante sea útil, debe ser capaz de unirse fuertemente a la fibra, y por lavado no debe perder su color. Debe ser relativamente estable químicamente y soportar bien la acción de la luz. (11)

#### 1.3.2.1 Clasificación de los Colorantes

La más elemental división de los colorantes es la que distingue entre colorantes natural y artificial. (9)

Los empleados actualmente en la industria textil son artificiales, en tan alto porcentaje que muy bien podría decirse que lo son en su totalidad. (9)

Sin embargo los colorantes naturales han sido tan importantes en la historia del vestido y la ornamentación que resulta imposible ignorarlos; la púrpura, la cochinilla, el índigo, el palo campeche, etc. (9)

##### 1.3.2.1.1 Colorantes Naturales

CUADRO N°2: Colorantes Naturales

Orgánicos de origen animal	cochinilla púrpura
Orgánicos de origen vegetal	índigo palo Campeche
Inorg. de origen mineral	cinabrio plomo cobalto

Flavonoides que actúan como colorantes entre ellos tenemos:

CUADRO N°3: Colorantes Flavonoides

Grupo	Color	Procedencia
Flavonol	Amarillo	Bidens
Flavonona	Crema Amarillo	Perejil
Calcona	Rojo y amarillo	Cártamo
Antocianina	Rojo y Violeta	Tinantía

### 1.3.2.1.2 Colorantes Artificiales

Son los más importantes en la tintura textil. Muchos de ellos proceden de aislar en laboratorio las sustancias correspondientes a los mismos colorantes en estado natural y proceder posteriormente a sintetizar químicamente colorantes idénticos a sus correspondientes naturales. (9)

El hecho de proceder mediante química a la obtención de colorantes da ocasión a que en tales procedimientos se busquen y consigan productos colorantes con cualidades apropiadas a los fines textiles que se les va a dar. (9)

CUADRO N°4: Colorantes artificiales

<b>COLORANTES ARTIFICIALES</b>		
ácidos	a la tina	Sulfurosos
básicos	de pigmentación	de complejo metálico
directos	Dispersos	colorantes sobre mordiente
reactivos		

### 1.3.2.2 Exigencias a los Colorantes

Solidez de una tintura o estampación es la resistencia que presenta a variar su color o perder intensidad al ser sometida a un agente externo, pudiendo dar lugar a la degradación del color o bien a la descarga sobre otros tejidos. (29)

#### 1.3.1.2.1 Factores que afectan a la solidez:

- **El propio colorante:** Su estructura química. Su estado de agregación, a mayor agregación mayor solidez.
- **La fibra:** Esta actúa como protector del colorante.
- **Proceso de tintura:** cada colorante tiene un proceso óptimo de aplicación, si varía disminuye la solidez.
- **Intensidad de tintura:** Para una misma cantidad de colorante desaparecido o degradado, la proporción es mayor para menores intensidades de tintura inicial.  
(29)

#### 1.3.2.2.2 Tipos de ensayos de solidez:

- Solidez de las tinturas a luz solar.
- Solidez de las tinturas a la intemperie: aire libre.
- Solidez de las tinturas a la limpieza en seco.
- Solidez de las tinturas a la acción de disolventes orgánicos con frotamiento.
- Solidez de las tinturas al agua.
- Solidez de las tinturas al agua de mar.
- Solidez de las tinturas a la acción del agua clorada.(de las piscinas).
- Solidez de las tinturas a la acción del sudor.
- Solidez de las tinturas a los ácidos.
- Solidez de las tinturas a los álcalis.
- Solidez de las tinturas a la acción del agua caliente ligeramente acidulada.

- Solidez de las tinturas al agua en ebullición. (potting).
- Solidez de las tinturas al vaporizado a presión atmosférica.
- Solidez de las tinturas a los agentes oxidantes y reductores
- Solidez de las tinturas al blanqueo con hipoclorito.
- Solidez de las tinturas a la acción del clorado ácido. (lana).
- Solidez de las tinturas al mercerizado.
- Solidez de las tinturas al frotamiento.

#### **1.4 MORDIENTES**

El mordiente es una sustancia empleada en tintorería que sirve para fijar los colores en los productos textiles. La función del mordiente es favorecer la fijación del colorante en las fibras. (10)

Este término es usado principalmente en la industria textil para designar a aquellas sales metálicas (de aluminio, hierro, plomo), ácidos (el ácido tánico, usado para fijar colores básicos), sustancias orgánicas (caseína, gluten, albúmina), etcétera, que sirven para fijar los colores de estampados en los textiles. Los mordientes se utilizan en pocas cantidades con el fin de no dañar a la fibra. (10)

Existen tres tipos de mordentado: (10)

- Mordentado anterior
- Mordentado posterior
- Mordentado simultaneo

## **1.5 MUESTREO, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DEL MATERIAL VEGETAL.**

### 1.5.1 Muestreo

El objetivo es obtener una muestra representativa del total, para realizar el análisis y determinar los niveles de los diversos componentes de la materia vegetal, como minerales, macro y micronutrientes, o residuos de plaguicidas remanentes en los vegetales.(24)

Para el muestreo se emplean los equipos usados normalmente en los trabajos forestales y agrícolas. Como norma general, no deben recogerse las plantas con el tiempo húmedo. Los instrumentos que se utilizan para la toma de muestras deben estar libres de contaminantes de plaguicidas. Se deben utilizar envases nuevos y en perfecto estado de limpieza.(24)

### 1.5.2 Transporte y conservación

Para el transporte y almacén, la muestra se mantendrá en las condiciones más parecidas a las de campo. Pueden ser refrigeradas, conservadas en bolsas de papel o de plástico, pero en éstas el tiempo de permanencia ha de ser el mínimo posible, ya que las reacciones enzimáticas pueden llevar a cambios en la estructura química.(24)

### 1.5.3 Limpieza y descontaminación

La descontaminación es necesaria para eliminar sustancias no nativas si se determina que el tejido foliar está cubierto de polvo o de materiales de fumigación. (24)

Se deben enjuagar las muestras suavemente para quitar las partículas de la superficie de la planta. No deben lavarse demasiado, pues algunos nutrientes solubles podrían perderse. Las muestras han de secarse suavemente con un trapo o papel. (24)

## 1.6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El Tamizaje Fitoquímico o "screening" fitoquímico es la etapa inicial de la investigación para determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y a partir de allí realizar la extracción para el aislamiento de los grupos de mayor interés, utilizando los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración. (23)

Consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración; debe permitir la evaluación rápida con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo, los resultados del mismo constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse. (23)

Comprende los siguientes ensayos: Cloruro Férrico, Ninhidrina, Shinoda, Antocianidinas, Fehling; los mismos que se aplican a la raíz de *Berberís halliii*; para identificar los flavonoides presentes en la planta. (23)

### 1.6.1 EXTRACCIÓN DE MATERIAS PRIMAS VEGETALES

En la industria se utiliza preferencialmente como materia prima, el material vegetal seco, una vez que este material se sometió a procesos de secamiento y estabilización. El secado del material en cuestión interrumpe los procesos enzimáticos en las células vegetales e impide el crecimiento de microorganismos, facilitando el almacenamiento y transporte de este material sin los riesgos de deterioro. (24)

Pocas son las plantas medicinales que son procesadas frescas: una de las excepciones es la alcachofa (*Cynara scolymus*), y en esta investigación *Berberís halliii*; debido a que los procesos de secado dan como resultado un producto final con contenidos inferiores de principios activos. (24)



### 1.6.1.1 Maceración

La maceración consiste en poner en contacto la droga y el solvente durante varios días. El resultado es un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente dependiendo de la naturaleza, humedad y factores relacionados con el solvente como selectividad y cantidad. (24)

### 1.6.1.2 Extracción:

Abarca la obtención del extracto bruto, que contiene además de la totalidad de los metabolitos presentes en la planta, impurezas, entre las cuales están grasas y ceras vegetales, resinas, colorantes, taninos, y sales de ácidos orgánicos. Para la purificación del extracto bruto es necesario el uso de solventes inmiscibles y variaciones de pH, lo que conlleva a la separación de la fracción de flavonoides. (24)

## **1.7 CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA**

### 1.7.1 DEFINICIÓN DE CROMATOGRAFÍA.

Recientemente la I.U.P.A.C define la cromatografía de forma más amplia como:

“Método usado principalmente para la separación de los componentes de una muestra, en el cual los componentes son distribuidos entre dos fases, una de las cuales es estacionaria, mientras que la otra es móvil. La fase estacionaria puede ser un sólido o un líquido soportado en un sólido o en un gel (matriz). La fase estacionaria puede ser empacutada en una columna, extendida en una capa, distribuida como una película, etc.”(12)

### 1.7.2 CONCEPTO DE R<sub>f</sub>.

R<sub>f</sub> es el registro y se define como la distancia que recorre la muestra desde el punto de aplicación / distancia que recorre el disolvente hasta el frente del eluyente.

El valor de Rf depende de las condiciones en las cuales se corre la muestra (tipo de adsorbente, eluyente, así como las condiciones de la placa, temperatura, vapor de saturación, etc.). Tiene una reproducibilidad de  $\pm 20\%$ , por lo que es mejor correr duplicados de la misma placa.(12)

### 1.7.3 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA. (CCf o TLC)

La cromatografía en capa fina se basa en la preparación de una capa, uniforme, de un adsorbente mantenido sobre una placa de vidrio u otro soporte. Los requisitos esenciales son, pues, un adsorbente, placas de vidrio, un dispositivo que mantenga las placas durante la extensión, otro para aplicar la capa de adsorbente, y una cámara en la que se desarrollen las placas cubiertas. Es preciso también poder guardar con facilidad las placas preparadas y una estufa para activarlas.(12)

La fase móvil es líquida y la fase estacionaria consiste en un sólido. La fase estacionaria será un componente polar y el eluyente será por lo general menos polar que la fase estacionaria, de forma que los componentes que se desplacen con mayor velocidad serán los menos polares.(12)

Los tamaños de la placa para CCf convencional son: 20 x 20; 10 x 20 y 5x2.

#### 1.7.3.1 Eluyentes más comunes para cromatografía en capa fina.(12)

- Acetato de etilo
- Acetona
- Ácido acético
- Ciclohexano
- Cloroformo
- Diclorometano
- Dietil-eter, t-butil-éter
- Etanol
- Éter de petróleo

- Éter dietílico
- Iso-propanol
- Metanol
- N-pentano, n-hexano
- Tetracloruro de carbono
- Tolueno

#### 1.6.3.2 Reveladores más comunes para cromatografía en capa fina

Las manchas de color son, por supuesto, inmediatamente visibles; las incoloras pueden revelarse mediante:(12)

- Luz UV: si la sustancia absorbe luz ultravioleta, se puede usar una fase estacionaria impregnada con un indicador fluorescente (F254 ó F366).
- La introducción de la placa en vapores de yodo.
- El rocío con una solución de magnesio/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:1 (dentro de un compartimiento especialmente protegido y bajo una campana de extracción de gases).
- Después calentar intensamente, por ejemplo, con un mechero hasta carbonizar los compuestos.

#### 1.7.3.3 Adsorbentes más comunes para Cromatografía en Capa Fina.(12)

- Sílica-gel (se utiliza en el 80% de las separaciones)
- Óxido de Aluminio ó Alúmina (ácida, neutra ó básica)
- Celulosa (Nativa o micro-cristalina)
- Poliamidas

Para la selección de adsorbentes deber tomar las siguientes consideraciones:

- Polaridad
- Tamaño de partícula
  - *Diámetro*
  - *Área Superficial*

- Homogeneidad
- Pureza

#### 1.7.4 Factores que influyen en una separación por Cromatografía de Capa Fina.

- Temperatura: a menor temperatura las sustancias se adsorben más en la fase estacionaria.
- La cromatografía debe llevarse a cabo en un área sin corrientes de aire.
- Limpieza de las placas. Muchas placas están contaminadas con grasa o agentes plastificantes o adhesivos. Para el trabajo a pequeña escala, éstas deben limpiarse corriendo primero una mezcla de cloroformo y metanol y después dejar secar completamente antes de aplicar la muestra.
- Pureza de los disolventes.(12)

## 1.8 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO

### 1.8.1 ESPECTROMETRÍA

La espectroscopia surgió con el estudio de la interacción entre la radiación y la materia como función de la longitud de onda ( $\lambda$ ). (14)

La espectrometría es la técnica espectroscópica para tasar la concentración o la cantidad de especies determinadas. En estos casos, el instrumento que realiza tales medidas es un espectrómetro o espectrógrafo. (14)

La espectrometría a menudo se usa en física y química analítica para la identificación de sustancias mediante el espectro emitido o absorbido por las mismas. (14)

## 1.8.2 ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

La espectrometría ultravioleta-visible o espectrofotometría UV-Vis implica la espectroscopia de fotones en la región de radiación ultravioleta-visible. Utiliza la luz en los rangos visible y adyacentes (el ultravioleta (UV) cercano y el infrarrojo (IR) cercano). En esta región del espectro electromagnético, las moléculas se someten a transiciones electrónicas. (14)

Esta técnica es complementaria de la espectrometría de fluorescencia, que trata con transiciones desde el estado excitado al estado basal, mientras que la espectrometría de absorción mide transiciones desde el estado basal al estado excitado. (14)

### 1.8.2.1 APLICACIONES

La espectrometría UV/Vis se utiliza habitualmente en la determinación cuantitativa de soluciones de iones metálicos de transición y compuestos orgánicos muy conjugados. (14)

- Soluciones de iones metálicos de transición: Las soluciones de iones metálicos de transición pueden ser coloreadas (es decir, absorben la luz visible) debido a que los electrones en los átomos de metal se pueden excitar desde un estado electrónico a otro. El color de las soluciones de iones metálicos se ve muy afectado por la presencia de otras especies, como algunos aniones o ligandos. (14)
- Compuestos orgánicos: Los compuestos orgánicos, especialmente aquellos con un alto grado de conjugación, también absorben luz en las regiones del espectro electromagnético visible o ultravioleta. Los disolventes para estas determinaciones son a menudo el agua para los compuestos solubles en agua, o el etanol para compuestos orgánicos solubles. Los disolventes orgánicos pueden tener una significativa absorción de UV, por lo que no todos los disolventes son adecuados para su uso en espectrometría UV. El etanol absorbe muy débilmente en la mayoría de

longitudes de onda. La polaridad y el pH del disolvente pueden afectar la absorción del espectro de un compuesto orgánico. (14)

Aunque los complejos de transferencia de carga también dan lugar a colores, éstos son a menudo demasiado intensos para ser usados en mediciones cuantitativas. (14)

La ley de Beer-Lambert establece que la absorbancia de una solución es directamente proporcional a la concentración de la solución. Por tanto, la espectrometría UV/VIS puede usarse para determinar la concentración de una solución. (14)

### 1.8.3 ESPECTROFOTÓMETRO ULTRAVIOLETA-VISIBLE

El instrumento utilizado en la espectrometría ultravioleta-visible se llama espectrofotómetro UV-Vis. Mide la intensidad de luz que pasa a través de una muestra (I), y la compara con la intensidad de luz antes de pasar a través de la muestra (I<sub>0</sub>). La relación I / I<sub>0</sub> se llama transmitancia, y se expresa habitualmente como un porcentaje (%T). La absorbancia (A) se basa en la transmisión: (14)

$$A = - \log (\%T)$$

Las partes básicas de un espectrofotómetro son una fuente de luz (a menudo una bombilla incandescente para las longitudes de onda visibles, o una lámpara de arco de deuterio en el ultravioleta), un soporte para la muestra, una rejilla de difracción o monocromador para separar las diferentes longitudes de onda de la luz, y un detector. (14)

### 1.8.5 ESPECTRO ULTRAVIOLETA-VISIBLE

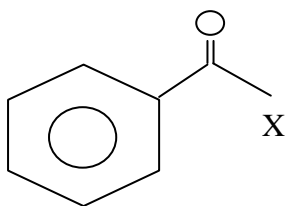
Un espectro ultravioleta-visible es esencialmente un gráfico de absorbancia de luz frente a una longitud de onda en el rango del ultravioleta o la luz visible. Este espectro puede ser producido directamente con los espectrofotómetros más sofisticados, o bien pueden registrarse los datos de una sola longitud de onda con los instrumentos más simples. La

longitud de onda se representa con el símbolo  $\lambda$ . Del mismo modo, para una determinada sustancia, puede hacerse un gráfico estándar del coeficiente de extinción ( $\epsilon$ ) frente a la longitud de onda ( $\lambda$ ). Este gráfico estándar sería efectivamente "la concentración corregida" y, por tanto, independiente de la concentración. Para una sustancia determinada, la longitud de onda en la cual se produce el máximo de absorbancia en el espectro se llama  $\lambda_{\text{max}}$ , y se pronuncia "lambda-max".(14)

Las reglas de Woodward-Fieser son un conjunto de observaciones empíricas que pueden utilizarse para predecir  $\lambda_{\text{max}}$ , la longitud de onda de la absorción UV-Vis, para compuestos orgánicos conjugados como dienos y cetonas. (14)

Ejemplo: Aplicación de las Reglas de Woodward-Fieser en cetonas

Sistema básico:

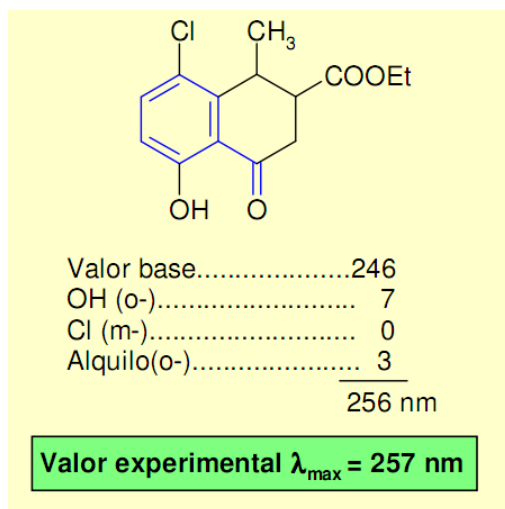


X = H 250  
 Alquilo, cicloalquilo 246  
 OH 230  
 OR 230

Incrementos por cada sustituyente del anillo aromático:

	<i>orto</i>	<i>meta</i>	<i>para</i>
<i>Alquilo, cicloalquilo</i>	3	3	10
-Cl	0	0	10
-Br	2	2	15
-OH, OR	7	7	25
-O <sup>-</sup>	11	20	78
-NH <sub>2</sub>	13	13	58
-NMe <sub>2</sub>	20	20	85
-NHCOMe	20	20	45

Aplicando las leyes:



Las longitudes de onda de los picos de absorción pueden correlacionarse con los tipos de enlace en una determinada molécula, y son valiosos para determinar los grupos funcionales dentro de la molécula. La absorción UV-Vis no es, sin embargo, una prueba específica para ningún compuesto determinado. La naturaleza del disolvente, el pH de la solución, la temperatura, la concentración de electrolitos, y la presencia de sustancias interferentes pueden influir en los espectros de absorción de los compuestos, así como las variaciones en la anchura de la hendidura (ancho de banda efectivo) en el espectrofotómetro. (14)



## CAPÍTULO II

### 2. PARTE EXPERIMENTAL

#### 2.1 LUGAR Y PRUEBAS DE ENSAYO

La presente investigación se desarrollo:

- Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Laboratorio de Química Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

#### 2.2 RECURSOS MATERIALES

##### 2.2.1 MATERIA PRIMA

Colorante:

Extracto etanólico de la raíz de *Berberis hallii*.

Extracto etanólico de los frutos de *Berberis hallii*

Fibras:

Natural: lana de oveja, algodón

Sintética: poliéster

## 2.2.2 EQUIPOS

N°	DESCRIPCIÓN
1	Estufa de circulación de aire Memmert
2	Molino
3	Balanza analítica Boeco Germany
4	Rotavapor Büchi R 110
5	Desecador
6	pHmetro
7	Espectrofotómetro UV 1603 Shimadzu
8	Reverbero
9	Bomba de vacío Vacuum Pressure Pump 115 VAC -60 Hz
10	Centrífuga Dynac CA
11	Atomizador (Equipo de revelado cromatográfico)
12	Refrigerador
13	Sorbona
14	Cámara digital
15	Computadora

## 2.2.3 MATERIALES DE LABORATORIO

N°	DESCRIPCIÓN
1	Balón aforado 100ml
2	Balón aforado 50ml
3	Balón esmerilado sin base de 250 ml
4	Balón esmerilado sin base de 500 ml
5	Capilares
6	Cartilla de colores
7	Cronómetro
8	Cuaderno de apuntes

<b>9</b>	Cuba de vidrio
<b>10</b>	Émbolo de succión
<b>11</b>	Embudo de filtración
<b>12</b>	Embudo de separación de 250ml
<b>13</b>	Envase de vidrio transparente de 500ml
<b>14</b>	Estilete
<b>15</b>	Frasco de vidrio
<b>16</b>	Galones negros de 8 L
<b>17</b>	Gradilla para tubos de ensayo
<b>18</b>	Guantes de jardinería
<b>19</b>	Guantes de manejo descartables
<b>20</b>	Mangueras
<b>21</b>	Matraz Erlenmeyer de 250 ml
<b>22</b>	Olla
<b>23</b>	Olla pequeña
<b>24</b>	Papel aluminio
<b>25</b>	Papel aluminio
<b>26</b>	Papel filtro
<b>27</b>	Papel toalla
<b>28</b>	Pera de succión
<b>29</b>	Pipeta Pasteur
<b>30</b>	Pipetas graduadas 10ml
<b>31</b>	Pipetas graduadas 1ml
<b>32</b>	Pipetas graduadas 5ml
<b>33</b>	Piseta
<b>34</b>	Placas cromatográficas 10*20 cm
<b>35</b>	Placas cromatográficas 10*4 cm
<b>36</b>	Placas de vidrio
<b>37</b>	Probeta de 100ml
<b>38</b>	Probeta de 10ml

39	Reverbero eléctrico
40	Saquillos de Nylon
41	Sierras
42	Termómetro
43	Tijeras
44	Tubos de ensayo
45	Trípode
46	Varilla de agitación
47	Vasos de precipitación 100ml
48	Vasos de precipitación 250ml
49	Vasos de precipitación 500ml

#### 2.2.4 REACTIVOS

N°	REACTIVOS
1	Acetato de etilo
2	Acetato de sodio
3	Ácido acético
4	Ácido clorhídrico
5	Ácido fórmico
6	Ácido nítrico
7	Ácido oxálico
8	Ácido sulfúrico
9	Ácidos (pH 2-7)
10	Agua destilada
11	Agua oxigenada
12	Agua pH 7
13	Alcohol amílico
14	Alcohol etílico 96%
15	Alumbre
16	Bases (pH 8-13)

17	Cloruro de sodio 0.9%
18	Cloruro férrico 5%
19	Detergente
20	Dicromato de potasio
21	Hidróxido de potasio
22	Hidróxido de sodio
23	Hipoclorito de sodio
24	Jabón
25	Magnesio metálico
26	Ninhidrina 5%
27	Reactivo de Fehling
28	Sílica gel
29	Sulfato de magnesio
30	Sulfato ferroso

### 2.3 FACTORES DE ESTUDIO

Los factores de estudio de esta investigación fueron:

- Colorante amarillo proveniente de tallos y raíz de *B. halliii*.
- Colorante café proveniente de frutos de *B. halliii*
- Teñido en fibras sintéticas y orgánicas
- Flavonoides presentes en el extracto de *B. halliii*.
- Análisis espectrofotométrico de los flavonoides aislados

### 2.4 UNIDAD EXPERIMENTAL O DE ANÁLISIS

Se utilizaron los tallos y raíces de *Berberis halliii*.

CUADRO N°5: Planta y lugar de procedencia, sustancias a identificarse.

<b>Planta</b>	<b>Lugar de Procedencia</b>	<b>Sustancias a identificarse</b>
Berberis hallii	Sector la Josefina San	Colorantes
“Carrasquilla”	Isidro del Cantón Guano provincia de Chimborazo	Flavonoides

## 2.5 MÉTODOS Y TÉCNICAS

### 2.5.1 OBTENCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Los tallos y raíces del arbusto *Berberis hallii* fueron recolectadas en el Sector la Josefina San Isidro del Cantón Guano provincia de Chimborazo, a una altura de 3123 m.s.n.m. el 7 de Mayo del 2010.

Los frutos fueron recolectados en el mismo sector el 19 de Junio del 2010

#### 2.5.1.1 Muestreo

Obtener una muestra representativa del total, para el análisis. El contenido de sustancias depende de factores como la edad, tipo y posición del tallo que se muestrea, la disponibilidad de nutrientes del suelo, el estado fitosanitario

#### 2.5.1.2 Recolección

Se realiza en la época en que la planta posee el mayor contenido de colorante antes de la floración. Los frutos se recolectaron en etapa de maduración.

### 2.5.1.3 Limpieza y descontaminación

Para la descontaminación de sustancias extrañas fue necesario enjuagar las muestras para quitar las partículas de la corteza. No se debe lavar en exceso ya que se puede perder cierta cantidad de colorante. Las muestras son secadas al ambiente.

Posteriormente se procede a separar la corteza de los tallos y raíces para obtener un extracto libre de clorofila. Se pesan las muestras.

Para la limpieza de los frutos se realizó un lavado de los mismos con abundante agua eliminando todas las impurezas. Se seco la muestra al ambiente y se pesa.

## 2.5.2 PREPARACIÓN DE LOS EXTRACTOS

La extracción del colorante se la realiza mediante un método de maceración por 72h. La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido. El producto sólido (materia prima) posee una serie de compuestos solubles en el líquido extractante que son los que se pretende extraer.

### Procedimiento

- Poner a secar la planta en estudio a temperatura ambiente o en una estufa con circulación de aire a menos de 40°C.
- Moler la planta seca (polvo).
- Pesar una cantidad de la muestra molida en un recipiente de vidrio.
- Adicionar alcohol etílico sobre la muestra hasta cubrir la muestra, dejar en reposo 72h.
- Filtrar y obtener la solución
- Evaporar el alcohol en un rotavapor.
- Obtener el extracto etanolito respectivo.
- Preparar solución del extracto de concentración conocida.

### **2.5.3 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LOS EXTRACTOS DE RAÍZ Y FRUTOS DE *Berberis hallii*.**

Para determinar cualitativamente los metabolitos de interés presentes en *B. hallii* se utilizaron los solventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración.

#### 2.5.3.1 Ensayo del Cloruro Férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general.

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

#### 2.5.3.2 Ensayo de Shinoda.

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 ml de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1ml de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.



El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo intenso en todos los casos.

#### 2.5.3.3 Ensayo de Antocianidinas.

Permite conocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia  $C_6C_3-Q$  del grupo de los flavonoides.

Se calienta 2ml, del extracto etanólico por 10 minutos con 1ml de HCl concentrado. Dejar enfriar y luego adicionar 1mL de agua y 2ml de alcohol amílico. Agitar y dejar separar las 2 fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, indica ensayo positivo.

#### 2.5.3.4 Ensayo de Fehling.

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2ml de agua. Se adicionan 2 ml del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.

### 2.5.4 CONDICIONES ÓPTIMAS DE TEÑIDO

#### 2.5.4.1 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA

Este método nos permite determinar a qué temperatura el baño de teñido la fibra absorbe mejor el colorante. Este parámetro se evalúa en función del porcentaje del baño agotado.

#### **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar.
- Lavar con el detergente hasta agua incolora, enjuagar y dejar secar.

- Medir la temperatura de 30°C
- Lavar los tubos de ensayo, sacarlos y pesarlos.
- Tomar 1mL muestra del baño en el tubo de ensayo.
- Se llevan los tubos y se introducen en la estufa a 102°C, por el tiempo necesario hasta llevarlos a sequedad, se retiran y se los coloca en un desecador, dejarlos enfriar y luego pesarlos en una balanza analítica.
- Por diferencia de pesos se obtendrá la cantidad de colorante presente en 1 ml de solución contenida en el tubo.
- Se realizará finalmente un gráfico de % de Baño Agotado vs. Temperatura y se determinara la TEMPERATURA EXACTA. (11)

#### 2.5.4.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO DE TINTURA

El método se basa en hallar el tiempo óptimo de tintura en función del %del baño de agotamiento. El análisis se realiza a diferentes tiempos y el que tenga menor porcentaje de agotamiento es el tiempo óptimo.

#### **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar.
- Lavar con el detergente hasta agua incolora, enjuagar y dejar secar.
- Introducir la fibra en el baño de teñido, en tiempos diferentes: 40, 80, 120, 160 y 200 min.
- Lavar los tubos de ensayo, secarlos y pesarlos.
- Tomar 1ml muestra del baño en el tubo de ensayo.
- Se llevan los tubos y se introducen en la estufa a 102°C, por el tiempo necesario hasta llevarlos a sequedad, se retiran y se los coloca en un desecador, dejarlos enfriar y luego pesarlos en una balanza analítica.
- Por diferencia de pesos se obtendrá la cantidad de colorante presente en 1ml de solución en el tubo.
- Realizar un gráfico % de Baño Agotado vs Tiempo y determinar el TIEMPO ÓPTIMO DE TINTURA. (11)

#### 2.5.4.3. DETERMINACIÓN DE pH

El pH óptimo para teñir las fibras se obtiene en función del % de agotamiento. El método consiste a diferentes pH, el que tenga menor porcentaje del baño agotado es el ideal para la tinción de la fibra.

##### **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar y lavar con el detergente por el tiempo necesario, enjuagar y dejar secar.
- Añadir colorante ya determinando según el peso de la fibra y medir el pH inicial.
- Adicionar el ácido o la base hasta obtener un rango amplio de pH y tinturar las muestras, controlar la temperatura y trabajar de acuerdo al tiempo óptimo.
- Medir la cantidad de baño agotado y tomar 1ml de muestra a los diferentes pH, en tubos de ensayo previamente pesados.
- Secar los tubos en una estufa a 120°C, ya secos, se pesan enfriándolos previamente por cinco minutos en el desecador.
- Gráfica % Baño Agotado vs pH y determinar el pH óptimo. (11)

#### 2.5.4.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL BAÑO AGOTADO.

Para la determinación de la concentración del baño agotado se utiliza método espectrofotométrico. Se prepararon soluciones a diferentes concentraciones, pudiendo de esta manera realizar una curva de calibración, en función de la absorbancia de cada una de ellas

##### **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar.
- Lavar con el detergente hasta agua incolora, enjuagar y dejar secar.
- Añadir un volumen fijo de colorante sobre la fibra.
- Llevar al pH óptimo el baño de teñido.

- Cuando es posible se pesa el colorante directamente, esto es cuando se añade de 0.2g en adelante, se diluye en agua caliente y se incorpora al baño.
- Se procede a calentar, agitando constantemente y cuando se alcanza la Temperatura máxima (de Ebullición) y el tiempo óptimo, se retira la fibra, se la escurre al máximo posible.
- Medir el volumen del baño agotado y determinación de la concentración espectrofotométricamente.
- Determinar la longitud de máxima absorbancia de la solución.
- Preparar estándares y realizar una curva de calibración.
- Medir la absorbancia de la solución problema y determinar la concentración en el baño residual.
- Realizar una gráfica de Absorbancia vs. Concentración. (11)

#### 2.5.4.5 DETERMINACIÓN DE LA RAZÓN LICOR ÓPTIMA.

Este método nos permite determinar bajo las condiciones óptimas de tintura cual es la razón licor, la que está en función del % de agotamiento.

#### **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar, lavar con el detergente por el tiempo necesario, enjuagar y dejar secar.
- Añadir el colorante sobre la fibra.
- Calentar, agitando constantemente y cuando se alcanza la Temperatura y el tiempo óptimo, se retira la fibra, se la escurre al máximo posible.
- Medir el volumen del baño agotado, tomar una muestra de 1ml y trasvasarla a un tubo de ensayo previamente pesado.
- Secar los tubos en una estufa a 120°C, enfriarlos y pesarlos.
- Lavar los tubos, secarlos en la estufa, dejarlos enfriar y pesarlos.
- Realizar una gráfica del % de Baño Agotado vs Razón Licor y determinar la Razón licor óptima. (11)

#### 2.5.4.6 APLICACIÓN DE MORDIENTES.

El método se refiere en adicionar a la fibra un mordiente que es absorbido por ella, pudiendo consecutivamente atraer el colorante.

Las técnicas se describen a continuación:

##### 2.5.4.6.1 MÉTODO PARA EL MORDIENTE ANTERIOR.

Este método consiste en tratar a la fibra con el mordiente antes de introducir al baño de teñido, bajo condiciones óptimas de tintura.

#### **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar.
- Lavar con el detergente por el tiempo necesario, enjuagar y dejar secar.
- Preparar el baño de mordentado el cual tiene al mordentado a utilizarse. EJ: 1.5% de alumbre, 1.5% de ácido fórmico. RL 100:1
- Introducir el material en el baño de mordentado a la temperatura inicial de 50°C.
- Elevar la temperatura hasta la ebullición, manteniendo en estas condiciones por 15 minutos.
- Retirar la muestra de fibra e introducirla en el baño de teñido preparado bajo las condiciones óptimas a una temperatura inicial de 50°C, llevarla a ebullición y mantenerla por 30 minutos.
- Enjuagar, secar y pesar.
- Observar el color y compararlo con colores estándares.
- Realizar una gráfica % de fibra teñida vs mordiente utilizado. (11)

##### 2.5.4.6.2 MÉTODO PARA EL MORDENTADO POSTERIOR

Este método consiste en tratar a la fibra con el mordiente después de ser teñida a condiciones óptimas de temperatura, tiempo, pH.

## **Procedimiento**

- Pesar la cantidad de fibra a tinturar.
- Lavar con el detergente por el tiempo necesario, enjuagar y dejar secar.
- Teñir la fibra en la solución colorante en las condiciones óptimas de teñido.
- Enjuagar, dejar secar.
- Introducir en el baño de mordentado el cual tiene el mordiente a utilizarse. EJ: 1.5% de dicromato de potasio, 1.5% de ácido fórmico. RL 100:1
- Elevar la temperatura hasta la ebullición, manteniendo en estas condiciones por 15 minutos, enjuagar, secar y pesar la fibra.
- Observar el color y compararlo con colores estándares.
- Realizar una gráfica % de Fibra Teñida vs Mordiente utilizado. (11)

### **2.5.4.7 DETERMINACIÓN DE LA SOLIDEZ**

Este método consiste en determinar la resistencia que presenta a variar su color o perder intensidad al ser sometida a un agente externo, pudiendo dar lugar a la degradación del color o bien a la descarga sobre otros tejidos.

Las técnicas se describen a continuación.

#### **2.5.4.7.1 SOLIDEZ A LA HUMEDAD**

## **Procedimiento**

- Lavar la fibra unos minutos a 40°C con 0.7g de detergente y 0.42g/L de jabón.
- Enjuagar con agua corriente a temperatura ambiente.
- Dejar secar y cortar hilos de 5 cm de largo del material teñido y envolverlos en hilos sin tratar.
- Humedecer y dejar en reposo a temperatura ambiente durante 24 h. observar el colorante transmitido al género blanco y clasificarlo en una escala general. (11)

#### 2.5.4.7.2 SOLIDEZ A LA EBULLICIÓN

##### **Procedimiento**

- A 5gr de hilo tinturado, colocarlo en un vaso de 500ml y llevarlo a 200ml con agua normal de pH 7.
- Incrementar la temperatura, cuando comience la ebullición tomar el tiempo de 10 minutos.
- Del agua contenida en el vaso tomar con una pipeta una muestra de 10ml.
- Colocar la muestra anteriormente tomada en un tubo de ensayo, previamente etiquetado y comparar luego este con un tubo patrón, que es agua hervida durante 10 minutos con las muestras tratadas.
- En los tubos de análisis deberán introducirse hilos sin tratar para observar el paso de color.
- Finalmente se clasificará según la escala general. (11)

#### 2.5.4.7.3 SOLIDEZ AL LAVADO

##### **Procedimiento**

- Preparar una solución pesando 0.8g de detergente y jabón 0.4g llevarlos a un volumen de 100ml con agua en un balón aforado.
- Medir 100ml de esta solución y calentar a 40°C
- En el baño anterior lavar 5gr de hilo tinturado.
- Tomar 10ml de muestra de la solución anterior y compararla con un patrón que será la solución detergente.
- Finalmente se clasificará según la escala general. (11)

#### 2.5.4.7.4 SOLIDEZ A LOS ÁCIDOS

##### **Procedimiento**

- Preparar soluciones de ácido nítrico, sulfúrico, fórmico y acético en un rango de concentración de 0.5 a 0.01N
- En un determinado volumen de las soluciones anteriormente preparadas, introducir 5g de hilo tinturado en las condiciones óptimas.
- Llevar a ebullición las diferentes soluciones ácidas y dejarlas por el espacio de 45 minutos.
- En cada solución deberán introducirse hilos sin tratar. (11)

#### 2.5.4.7.5 SOLIDEZ A LAS BASES

##### **Procedimiento**

- Preparar soluciones de hidróxido de sodio y hidróxido de potasio en un rango de concentración de 0.5 a 0.01N
- En un determinado volumen de las soluciones anteriormente preparadas, introducir 5g de hilo tinturado en las condiciones óptimas.
- Llevar a ebullición las diferentes soluciones ácidas y dejarlas por el espacio de 45 minutos.
- En cada solución deberán introducirse hilos sin tratar. (11)

#### 2.5.4.7.6 SOLIDEZ A LOS ÓXIDANTES

##### **Procedimiento**

- Preparar soluciones de dicromato de potasio y agua oxigenada en un rango de concentración de 0.5 a 0.01N
- En un determinado volumen de las soluciones anteriormente preparadas, introducir 5g de hilo tinturado en las condiciones óptimas



- Llevar a ebullición las diferentes soluciones ácidas y dejarlas por el espacio de 45 minutos.
- En cada solución deberán introducirse hilos sin tratar.
- Comparar el color de los hilos tinturados con gamas existentes en el mercado y con una solución patrón que es la obtenida hirviendo la fibra tinturada en agua simple por el mismo espacio de tiempo.
- Finalmente se clasificará según la escala general. (11)

#### 2.5.4.7.7 SOLIDEZ AL FROTE

##### **Procedimiento**

- Frotar energéticamente 30 veces el material teñido, sobre un tejido blanco, con un movimiento de atrás hacia delante.
- Se compara el material blanco sin frote con el material resultante del tratamiento.
- La clasificación se la realiza según la escala general. (11)

#### 2.5.4.7.8 SOLIDEZ A LA LUZ

##### **Procedimiento:**

- Preparar un ensayo conjunto con todas las muestras, cortarlas en pedazos de 1cm por 5cm.
- Colocarlas una junto a la otra sobre una cartulina.
- En el centro de este muestrario se monta el estándar de lana sin teñir.
- Cubrir la mitad del muestrario con una cartulina negra y dejarla bajo la acción de la luz del día, bajo condiciones ambientales con un promedio de 20°C y humedad relativa del 50%.
- Retirar el material y compararlo con el blanco y comparar con estándares (material teñido en condiciones óptimas de temperatura, tiempo, pH, razón licor).
- La clasificación se la realiza de acuerdo a la escala general. (11)

#### 2.5.4.7.9 SOLIDEZ AL HIPOCLORITO

##### **Procedimiento**

- Preparar soluciones de hipoclorito de sodio en un rango de concentraciones de 0.5 a 0.01 N.
- En un determinado volumen de las soluciones anteriormente preparadas, introducir 5g de hilo tinturado en las condiciones óptimas.
- Dejar las fibras en las soluciones durante media hora en frío.
- Comparar el color de los hilos tinturados con gamas existentes en el mercado y con una solución patrón que es la obtenida tratando la fibra tinturada en agua simple por el mismo espacio de tiempo.
- Finalmente se clasificará según la escala general.(11)

#### **2.5.5 EXTRACCIÓN DE FLAVONOIDES**

La extracción abarca la obtención del extracto bruto, que contiene de la totalidad de los metabolitos presentes en la planta, impurezas entre las cuales se citan grasas, ceras vegetales, resinas, colorantes, taninos, y sales de ácidos orgánicos como el ácido oxálico.

Para la purificación del extracto bruto es necesarios el uso de solventes inmiscibles y variaciones de pH lo que conlleva a la separación de la fracción de flavonoides.

En un embudo de separación a 20 ml del extracto etanólico (149.9 g) se agregaron 5 ml de Tolueno por tres veces; obteniéndose:

- Fase de Tolueno: Evapora y se obtiene el sub-extracto. Pruebas de teñido
- Solución Etanólica (ETOH)

A la solución ETOH se le agregan 5ml de Cloroformo  $\text{HCCl}_3$  por 3 veces; obteniéndose dos fases:

- Solución clorofórmica: Concentra y se obtiene el sub-extracto clorofórmico. Pruebas de teñido

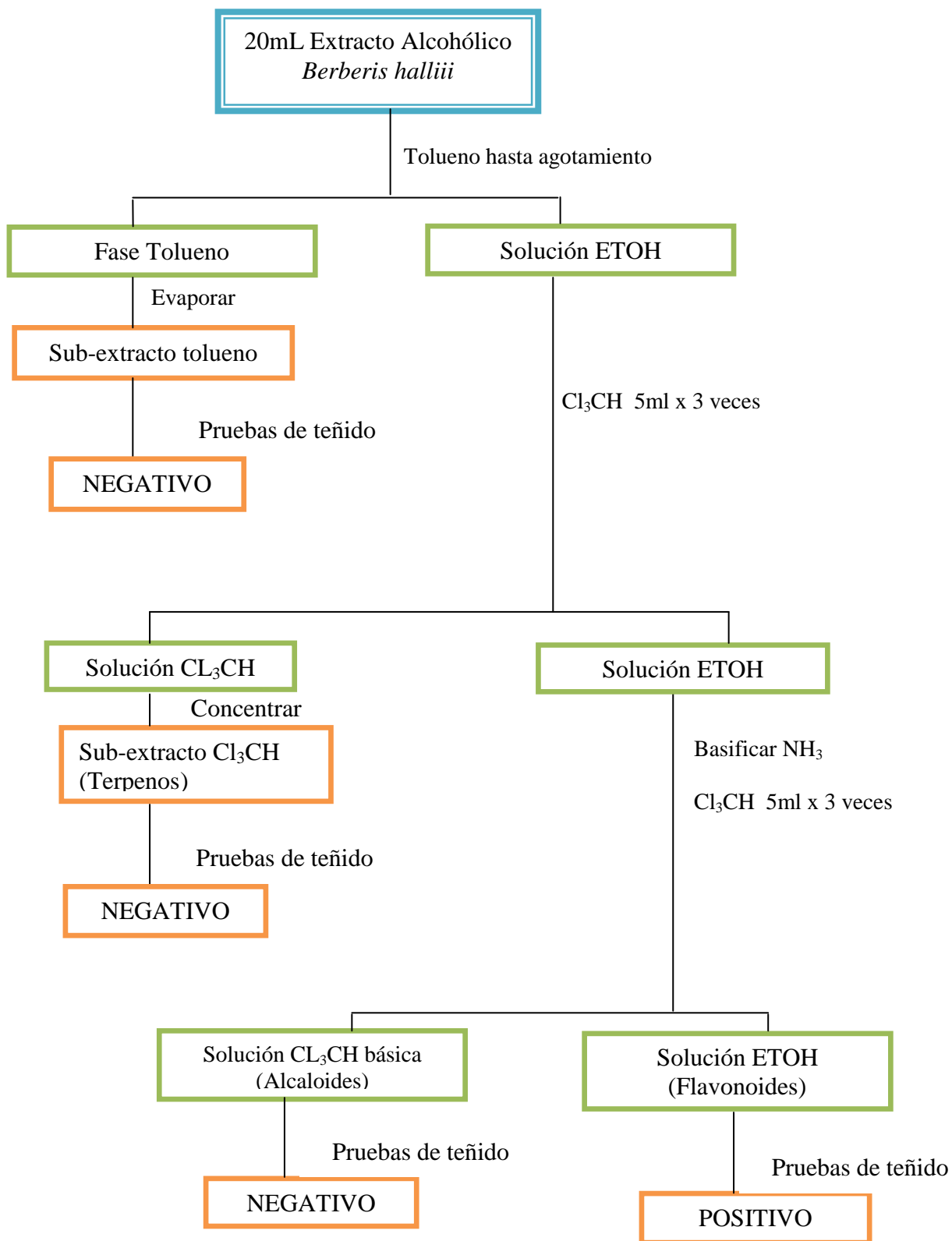
- Solución ETOH

A la solución EtOH se basifica con Amoníaco  $\text{NH}_3$ , y se adiciona 5ml de Cloroformo por tres veces resultando:

- Solución Clorofórmica básica: Pruebas de teñido
- Solución ETOH

Posteriormente a la fracción 4 se realizó un baño en frío con hielo y Acetona para obtener el residuo seco de Alcaloides. (0.5063g)

FIGURA N°5: Fraccionamiento del extracto de raíz de *Berberis hallii* y obtención de Flavonoides



## 2.5.6 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA

### 2.5.6.1 Preparación de placas cromatográficas preparativas

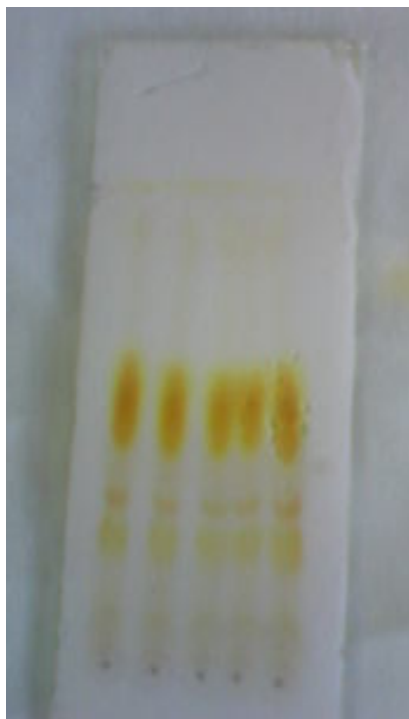
Para placas de vidrio de 2mm de espesor y 10\*20:

- Lavar las placas de vidrio 10 x 20, secarlas y colocarlas sobre una superficie plana.
- Preparar en un erlenmeyer de 250 ml una papilla bien homogeneizada con 16 g de sílica-gel de capa fina (SÍ02) y 32 ml de agua destilada. Hasta sonido metálico.
- Con ayuda de un extensor, del grosor adecuado de capa, extender la papilla sobre las placas antes de que endurezca.
- Al cabo de un momento llevar las placas a la estufa durante 1 hora.
- Retirar las placas de la estufa y dejar en el desecador durante 15 - 20 minutos.

### 2.5.6.2 Colocación de muestra de alcaloides sobre la placa Cromatográfica

- A partir de 0.5 g de flavonoides secos agregar 2ml de Etanol 96 %. Disolver.
- En la placa cromatográfica señalar 1 cm de distancia desde el borde inferior de la misma.
- Con la ayuda de un Capilar despuntado o de una Pipeta Pasteur proceder a colocar pequeñas gotas de muestra sobre la placa, esperando a que se seque las manchas repetir el procedimiento por 3 o 4 veces, evitando que las manchas se unan.

- Una vez secas las manchas se coloca sobre una cuba de vidrio que contiene el sistema de solventes Acetato de Etilo: Ácido acético: Ácido fórmico: Agua (100:11:11:26) en relación a 20ml. Se deja correr el solvente.



FOTOGRAFÍA N°3: Cromatografía en capa fina del sub- extracto etanólico de *Berberis hallii*

#### 2.5.6.3 Revelado Cromatográfico

La sustancia utilizada para el revelado cromatográfico fue el Sulfato de magnesio, sustancia exclusiva para revelar flavonoides.

- Con la ayuda de la bomba de vacío y el atomizador dentro del cual se encuentran 50 ml de Sulfato de cerio se arma el equipo de Revelado Cromatográfico.
- Colocar las placas dentro de la Sorbona en posición vertical.
- Encender la bomba de vacío y a una distancia considerable se procede a dispersar el reactivo revelador sobre las placas.

- Esperar de 2 - 5 min que las placas se sequen.
- Colocar las placas reveladas sobre el reverbero y calentarlas



FOTOGRAFÍA N°4: Revelado cromatográfico con sulfato de cerio

- Identificar las manchas presentes.
- Observar el color de las manchas
- Calcular el Rf de las manchas reveladas

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el disolventes}}$$

Placa: Sílica-gel G<sub>F254</sub>

Solvente de recorrido: Ácido acético: Ácido fórmico: Agua (100:11:11:26)

Revelador: Sulfato de cerio

Muestra: Sub-extracto ETOH

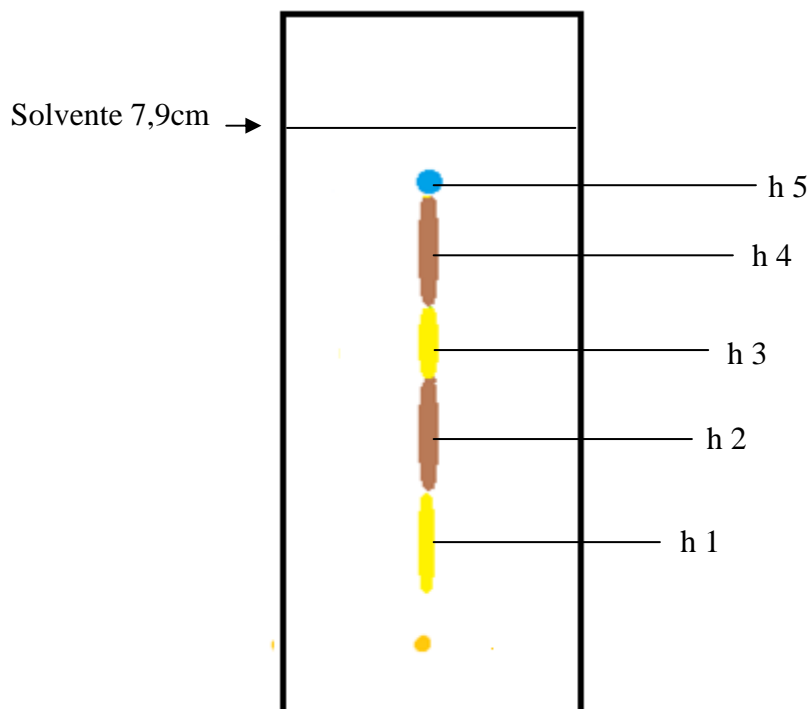


FIGURA N°6: Cromatografía de Capara fina para identificar flavonoides del sub-extracto etanólico de *Berberis hallii*

CUADRO N°6: Datos obtenidos en la Cromatografía de capa fina del sub-extracto etanólico de *Berberis hallii*

Altura (h =cm)	Valor (cm)	Rf	Banda (B)
h 1	2,2	0,27	B1
h 2	3,2	0,40	B2
h 3	4,1	0,51	B3
h 4	6,0	0,76	B4
h 5	7,1	0,91	B5

#### 2.5.6.4 Separación de manchas reveladas en la Cromatografía

- Luego de haberse identificado en las placas Cromatográficas preparativas la presencia de 4 manchas bien diferenciadas, se separó las mismas:



- Con la ayuda de una placa cubre-objetos se traza una línea de separación entre las 4 manchas de cada una de las placas Cromatográficas.
- Separar cuidadosamente las manchas; evitando que el contenido de las mismas se mezcle; pues los resultados en la lectura del espectro se alterarían y ocasionarían datos incorrectos.
- A cada mancha se les denomina como Banda B1, Banda B2, Banda B3, Banda B4 y Banda B5.
- Inmediatamente el contenido de las bandas colocar en frascos ámbar de vidrio y tapa rosca previamente etiquetados.

#### 2.5.6.5 Separación de las bandas de la Sílica-gel

- En cada envase que contiene las bandas se agrega una cantidad del sistema de solventes (Acetato de Etilo, Ácido acético, Ácido fórmico, Agua 100:11:11:26), de tal manera que el contenido quede humedecido
- Traspasar los contenidos de las bandas a tubos de ensayo previamente etiquetados.
- Los tubos de ensayo se centrifugan durante 5 min.
- Retirar el sobrenadante de cada tubo.
- Una vez terminado el proceso se concentra el sobrenadante de cada banda en el rota vapor:

#### 2.5.6.6 Lectura en el Espectrofotómetro de las bandas

- Se llevó las bandas a lectura en el espectrofotómetro.
- Se realizó un barrido desde 200- 400nm y 400- 600nm.
- Se determinó las longitudes de onda

CUADRO N°7: Determinación Ultravioleta de las bandas aisladas en el Sub-extracto etanólico

BANDAS	Rf	LONGITUD DE ONDA ( $\lambda$ ) nm	ABSORBANCIA (Abs)
B1	0,27	421	0,906
B2	0,40	205 215 241	0,222 0,260 0,411
B3	0,51	270 279 285	3,262 3,180 3,107
B4	0,76	421	3,054
B5	0,91	205 233 241 261 279	0,225 0,324 0,374 2,037 2,054

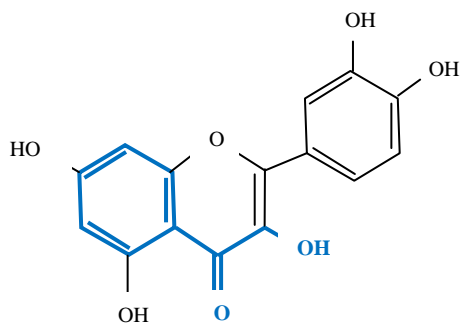
### 2.5.7 APLICACIÓN DE LAS REGLAS DE WOODWARD Y FIESER PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES

- Se aplicaron las Reglas de Woodward –Fieser.
- Se determina las longitudes de onda según las estructuras químicas de los flavonoides presentes mediante las tablas que proporcionan los datos de longitud de onda de cada compuesto. (Ver anexo 8)

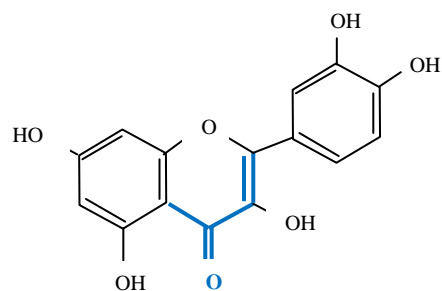
En bibliografía encontrada se establece que el género *Berberis* presentan en su composición química flavonoides como quercetina, kaempferol, apigenina y luteolina, y antocianinas: delphinidina-3glucósido, cianidina-3glucósido, petunidina-3glucósido, peonidina-3glucósido, malvidina-3glucósido.

Aplicación las Reglas de Woodward y Fieser en las estructuras químicas de los flavonoides y antocianinas:

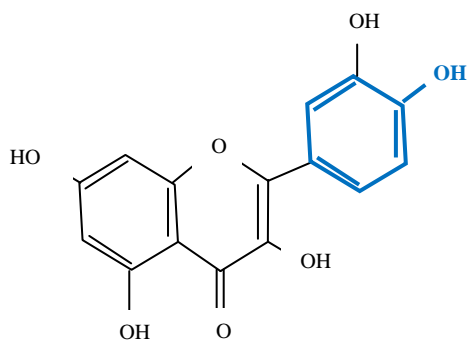
## QUERCETINA



Anillo Base.....	230
OH (meta)x2.....	14
OCH <sub>3</sub> (orto).....	7
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	254

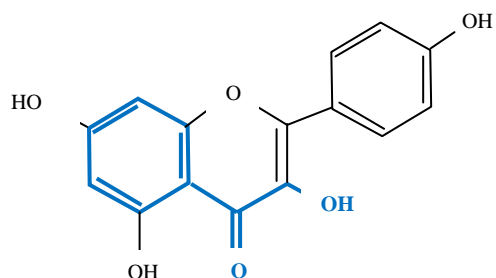


Anillo Base.....	215
C-sust (β).....	12
OH (α).....	35
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	30
	<hr/>
	297

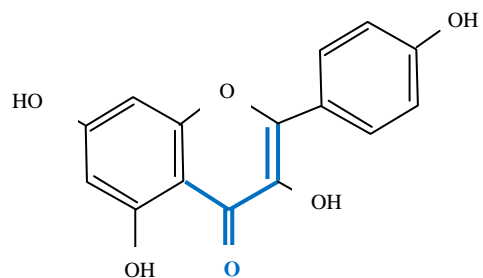


Anillo Base.....	211
OH(orto).....	7
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	14
OH β.....	35
	<hr/>
	269

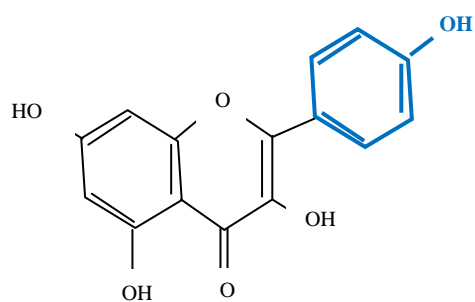
## KAEMPFEROL



Anillo Base.....	230
OH (meta)x2.....	14
OCH <sub>3</sub> (orto).....	7
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	254

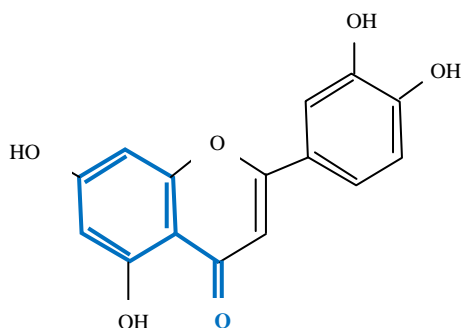


Anillo Base.....	215
C-sust (β).....	12
OH (α).....	35
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	30
	<hr/>
	297

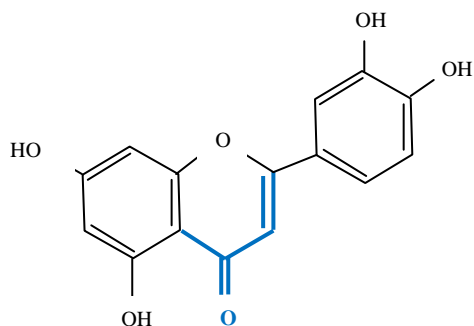


Anillo Base.....	211
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	14
OHβ.....	30
	<hr/>
	260

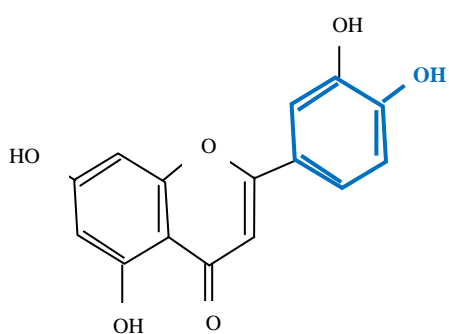
## LUTEOLINA



Anillo Base.....	246
OH (meta)x2.....	14
OCH <sub>3</sub> (orto).....	7
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	270

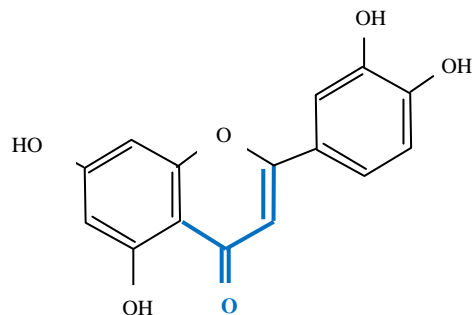
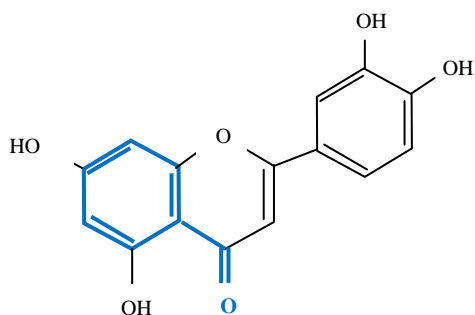


Anillo Base.....	215
C-sust (β).....	12
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	30
	<hr/>
	262



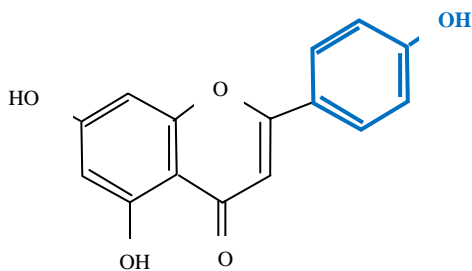
Anillo Base.....	211
OH(orto).....	7
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	14
	<hr/>
	237

## APIGENINA



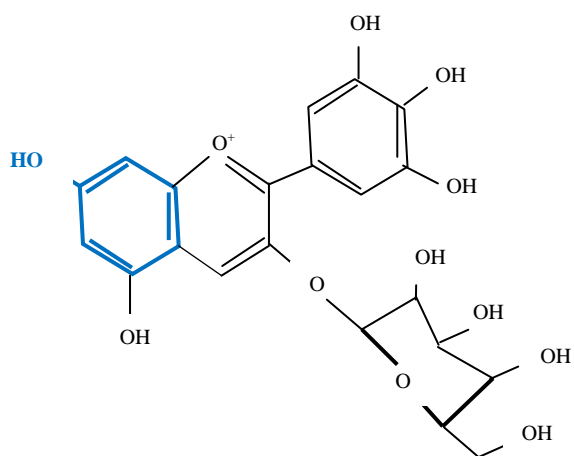
Anillo Base.....	215
C-sust (β).....	12
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	30
	<hr/>
	262

Anillo Base.....	246
OH (meta)x2.....	14
OCH <sub>3</sub> (orto).....	7
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	270

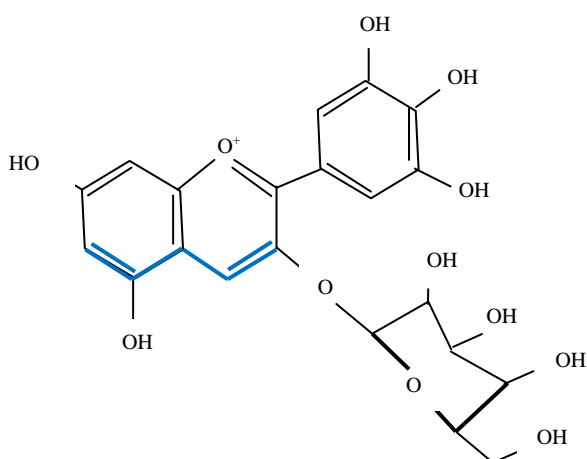


Anillo Base.....	211
C=C exocíclico.....	5
OCH <sub>3</sub> .....	14
	<hr/>
	230

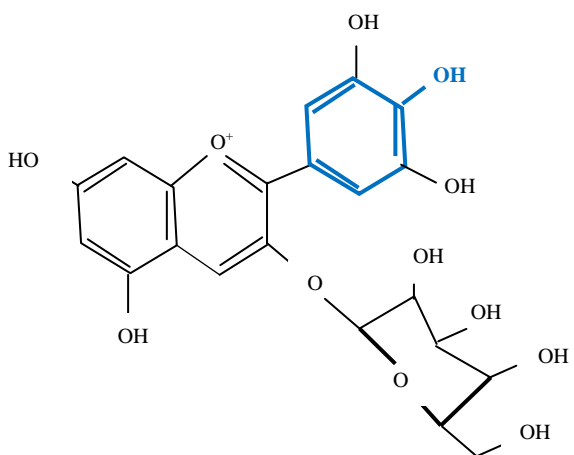
**DELFINIDINA-3-glucósido**



Anillo Base.....	211
OH(meta).....	7
C=C exocíclico.....	5
Azúcar.....	30
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	256

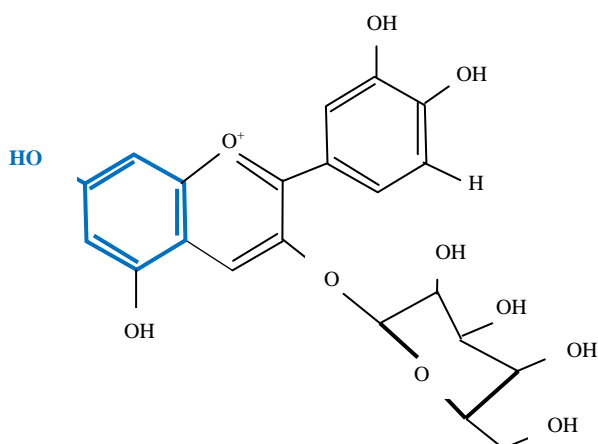


Anillo Base.....	214
C sustituyente x3.....	3
OR x2.....	12
C=C exocíclico.....	5
C=C conjugado.....	30
	<hr/>
	276

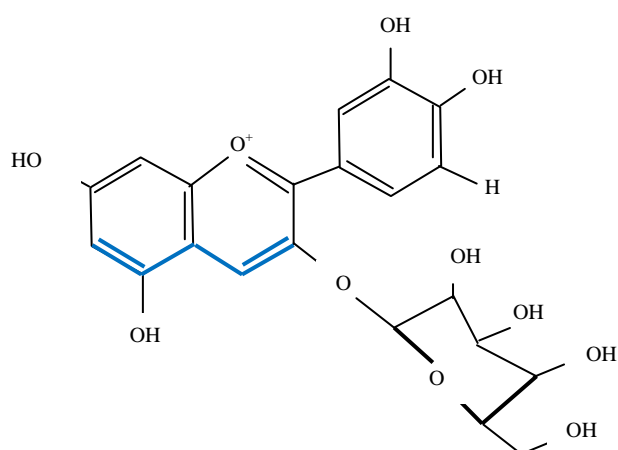


Anillo Base.....	211
OH(orto)x2.....	14
C=C exo(β).....	5
Azúcar.....	30
Residuo anular.....	10
	<hr/>
	270

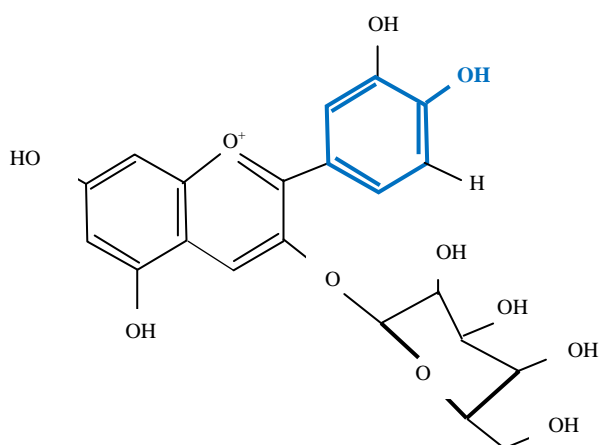
## CIANIDINA-3-glucósido



Anillo Base.....	211
OH(meta).....	7
C=C exocíclico.....	5
Azúcar.....	30
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	256



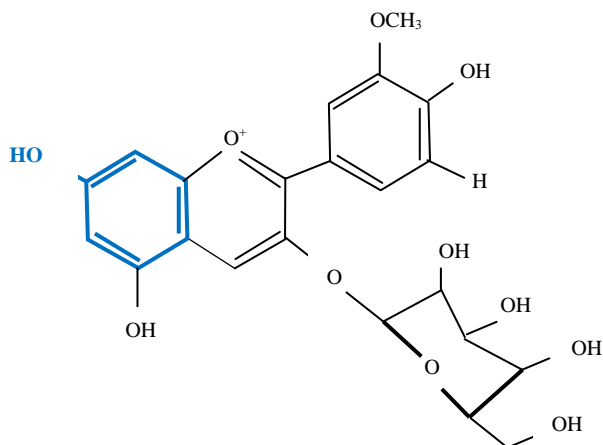
Anillo Base.....	214
C sustituyente x3.....	3
OR x2.....	12
C=C exocíclico.....	5
C=C conjugado.....	30
	<hr/>
	276



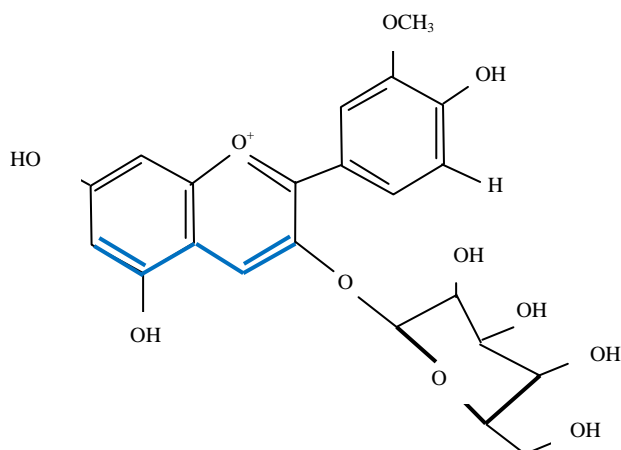
Anillo Base.....	211
OH(orto).....	7
C=C exo(β).....	5
Azúcar.....	30
Residuo anular.....	10
	<hr/>
	263



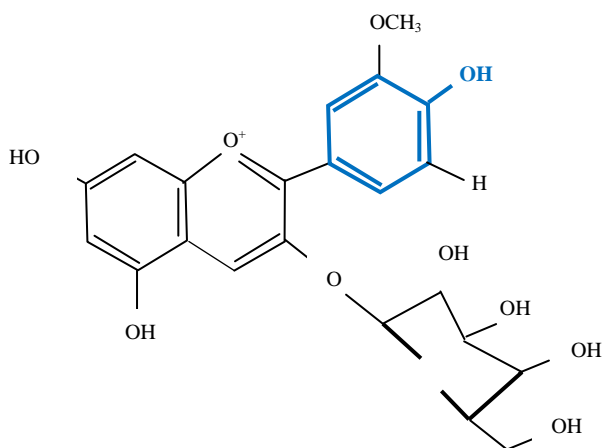
## PEONIDINA-3glucósido



Anillo Base.....	211
OH(meta).....	7
C=C exocíclico.....	5
Azúcar.....	30
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	256

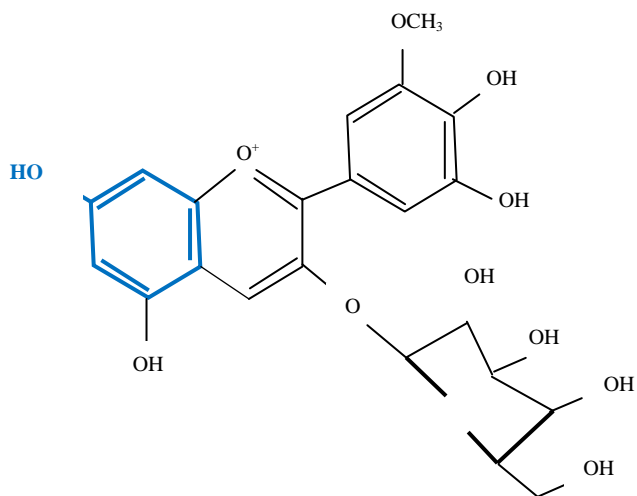


Anillo Base.....	214
C sustituyente x3.....	3
OR x2.....	12
C=C exocíclico.....	5
C=C conjugado.....	30
	<hr/>
	276

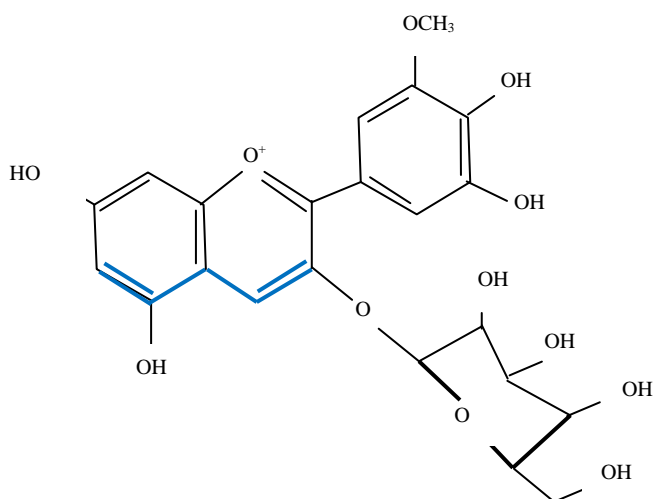


Anillo Base.....	211
OCH <sub>3</sub> (orto).....	14
C=C exo(β).....	5
Azúcar.....	30
Residuo anular.....	10
	<hr/>
	270

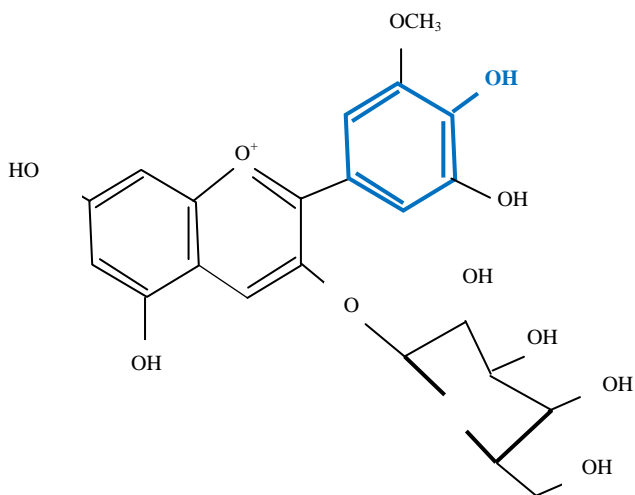
## PETUNIDINA-3glucósido



Anillo Base.....	211
OH(meta).....	7
C=C exocíclico.....	5
Azúcar.....	30
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	256

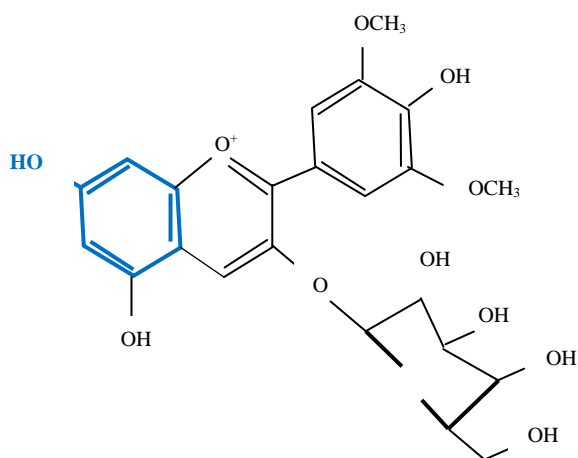


Anillo Base.....	214
C sustituyente x3.....	3
OR x2.....	12
C=C exocíclico.....	5
C=C conjugado.....	30
	<hr/>
	276

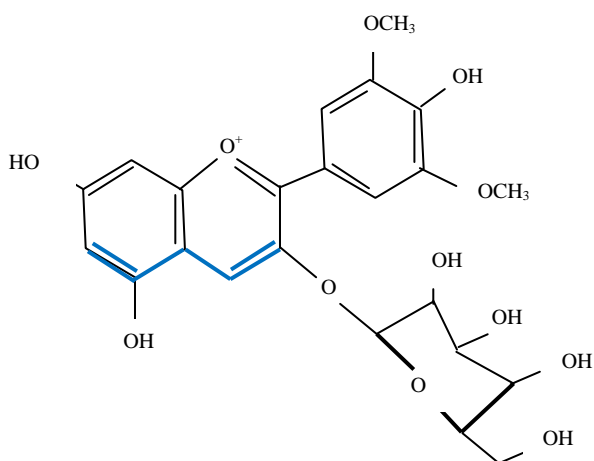


Anillo Base.....	211
OCH <sub>3</sub> (orto).....	14
OH(orto).....	7
C=C exo(β).....	5
Azúcar.....	30
Residuo anular.....	10
	<hr/>
	277

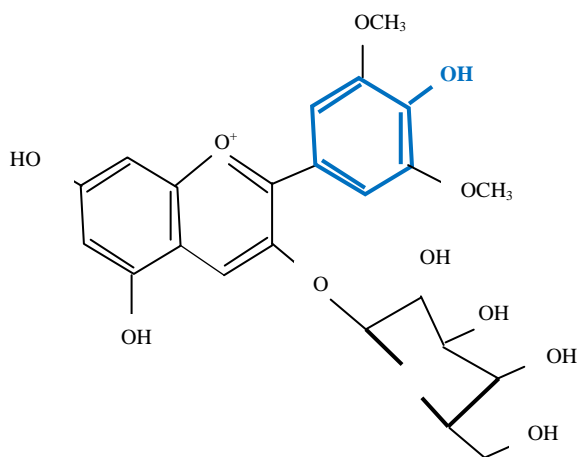
MALVIDINA- 3 glucósido



Anillo Base.....	211
OH(meta).....	7
C=C exocíclico.....	5
Azúcar.....	30
Residuo de anillo.....	3
	<hr/>
	256



Anillo Base.....	214
C sustituyente x3.....	3
OR x2.....	12
C=C exocíclico.....	5
C=C conjugado.....	30
	<hr/>
	276



Anillo Base.....	211
OCH <sub>3</sub> (orto).....	28
C=C exo(β).....	5
Azúcar.....	30
Residuo anular.....	10
	<hr/>
	284

## CAPÍTULO III

### 3.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1.1 TAMIZAJE FITOQUÍMICO PARA IDENTIFICAR FLAVONOIDES

Los resultados obtenidos en los extractos de las raíces y frutos de *Berberis hallii* se aprecian en el siguiente cuadro. Con respecto a las reacciones de coloración aplicadas según las técnicas de tamizaje fitoquímico.(23)

CUADRO N° 8: Tamizaje fitoquímico para identificar Flavonoides

Interpretación: (-) Negativo, (+) Baja evidencia, (++) Evidencia, (+++) Alta evidencia, (+/-) Falsos Positivos

Ensayos	Raíces	Frutos
<b>Cloruro Férrico</b> (Compuestos fenólicos y <b>Taninos</b> )	Verde intenso (++)	Rojo vino (++)
<b>Shinoda</b> (Flavonoides)	Amarillo (+++)	Rojo (++)
<b>Antocianinas</b>	(++)	(+++)
<b>Fehling</b> (azucars)	(++)	(++)

### 3.1.2 DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES ÓPTIMAS DE TEÑIDO

#### 3.1.2.1 DETERMINACIÓN DE LA TEMPERATURA

Para la evaluación de esta variable se preparó una solución de colorante al 10% con un tiempo de tratamiento de 60 minutos, analizando los resultados en función del % de Baño agotado en 1ml de muestra tomado a diferentes temperaturas.

En la TABLA N° 1 y el GRÁFICO N° 1 (Ver anexo 1) al relacionar la temperatura con respecto al porcentaje de agotamiento de las raíces es destacable que a medida que incrementa la temperatura el % de Agotamiento va disminuyendo; en este caso mientras disminuye a 80 °C el % de Agotamiento es 1,2 presentando una mejor adherencia del colorante con respecto a las fibras.

El resultado para los frutos es 80 °C y 0.10 % Agotamiento de igual forma presenta una mejor adherencia del colorante con respecto a las fibras.

TABLA N°1: Determinación de la Temperatura óptima del extracto de raíces y frutos de *Berberis hallii*.

TEMPERATURA °C	% AGOTAMIENTO	
	RAÍCES	FRUTOS
30	3,4	4,9
35	3,3	4,5
40	3,1	4,3
45	3,0	4,0
50	2,8	3,9
55	2,5	2,7
60	2,3	2,5
65	2,0	2,2
70	1,9	1,9
75	1,5	1,2
80	1,2	1,0

### 3.1.2.2 DETERMINACIÓN DEL TIEMPO ÓPTIMO DE TINTURA

Este parámetro se evalúa a una concentración de 10% del colorante, a la temperatura de ebullición. Se realizó la comparación del % de agotamiento en 1ml de muestra de los diferentes baños analizados.

Los datos obtenidos constan en la TABLA N° 2 y se representan en los GRÁFICO N° 2 (Ver anexo 2). Al relacionar el % de Agotamiento de las raíces y de los frutos se detalla claramente en la grafica que; mientras en las raíces el % de Agotamiento optimo es 1.53 a 40 min y cada medición va ascendiendo, para los frutos se observa una variación que decrece e incrementa entre los 40 – 120 min, esto se debe a la aparición de cristales indicativos de azucares que implican la disminución e incremento inmediato en el % de Agotamiento; así como también perdidas que incluyen factores como sustancias volátiles y variación de temperatura.

TABLA N°2: Determinación del Tiempo óptimo del extracto de raíces y frutos de *Berberis hallii*.

<b>TIEMPO</b> <b>Min</b>	<b>% AGOTAMIENTO</b>	
	<b>RAÍCES</b>	<b>FRUTOS</b>
40	1.53	1.49
80	3.84	1.41
120	5.52	7.62
160	7.79	9.04
200	9.92	9.69

### 3.1.2.3 DETERMINACIÓN DE pH

El pH fue otro parámetro analizado, el mismo que se analizó en función del porcentaje del baño agotado en 1 ml de muestra, bajo las condiciones de temperatura y tiempo óptimas determinadas previamente. El pH inicial del extracto de raíces es de 5,07 y de los frutos 4.54

Se establece que el tiempo óptimo adecuado es de 40 min con un pH de 2 y % de Agotamiento de 0.23, obteniendo mejor concentración de colorante en las fibras. Los datos que se obtuvieron en este análisis están en la TABLA N° 3 y representados en el GRÁFICO N° 3 (Ver anexo3).

TABLA N°3: Determinación de pH óptimo del extracto de raíces de *Berberis hallii*.

pH	%AGOTAMIENTO
	RAÍCES
2	0.23
3	0.25
4	0.24
5	0.32
6	0.38
7	0.30
8	0.48
9	0.55
10	0.67
11	0.62
12	0.70
13	0.71

En la solución colorante extraída de los frutos de la *Berberis* se obtuvo los siguientes datos:

Para teñir la lana el pH óptimo de la solución en un rango 3-4 con un porcentaje más bajo de agotamiento 0.11%.

En el caso del algodón y poliéster el pH de la solución es 3 obteniendo un porcentaje de agotamiento de 0.08%

#### 3.1.2.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DEL BAÑO AGOTADO.

Para la evaluación de esta variable se trabajo en condiciones óptimas de temperatura, tiempo y pH. Para este análisis se prepararon soluciones a diferentes concentraciones, pudiendo de esta manera realizar una curva de calibración, en función de la absorbancia de cada una de ellas.

Se determinó la concentración inicial de la solución y la concentración final (concentración del baño agotado) de la misma después del proceso de teñido, mediante método espectrofotométrico.

Con la solución del extracto de las raíces los datos están indicados en la TABLA N° 4 y representados en el GRÁFICO N° 4 (Ver anexo 4). Si se observa este gráfico es necesario aplicar una regresión lineal, entonces la ecuación de la recta es:

$$A = 0.116C - 0.095$$
$$r = 0.940$$

TABLA N°4: Concentración del Baño Agotado del extracto de la raíces de *Berberis halliii*.

CONCENTRACIÓN (g/ml)	ABSORBANCIA $\Lambda$ max = 378
35	4.000
30	3.639
25	2.436
20	2.301
15	1.749
<b>C = 33.232</b>	3.760



Para una A= 3.760 la concentración (C) del Baño agotado será igual a 33.235, esto se obtiene al reemplazar el valor de la absorbancia en la ecuación de la recta.

$$A = 0.116C - 0.095$$

$$3.760 = 0.116C - 0.095$$

$$C = \frac{3.760 + 0.095}{0.116}$$

$$C = 33.232$$

Para el extracto de los frutos los datos están en la TABLA N°5 y representados en el GRÁFICO N°5 (Ver anexo 5). La ecuación de la recta es

$$A = 0.207 C + 0.022$$

$$R = 0.991$$

Para una absorbancia A = 3.110 la concentración (C) del baño agotado es igual a 9.14

TABLA N°5: Concentración del Baño Agotado del extracto de los frutos de *Berberis hallii*.

CONCENTRACIÓN (g/ml)	ABSORBANCIA $\lambda$ max = 520
25	5,374
20	3,939
15	3,124
10	2,067
5	1,134
<b>C = 14,917</b>	3.110

### 3.1.2.5 DETERMINACIÓN DE LA RAZÓN LICOR ÓPTIMA.

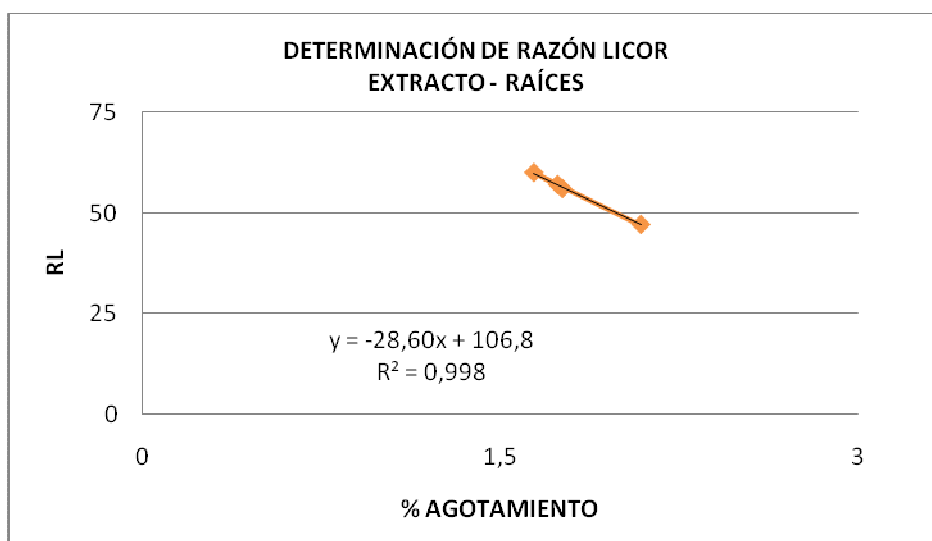
La determinación de la razón licor (RL) se realiza en función del % de agotamiento en el baño de teñido, a temperatura, tiempo y pH óptimo. Para determinar este parámetro se partió de una solución al 10%.

Según los datos de la TABLA N° 6 representados en el GRÁFICO N°6 en condiciones óptimas de teñido la relación baño-fibra del extracto de raíces reemplazando en la ecuación de la recta el promedio del porcentaje de agotamiento es de 55:1.

TABLA N°6: Determinación de la Razón Licor del extracto de las raíces de *Berberis hallii*.

% AGOTAMIENTO	RL
1,76	56:1
1,64	60:1
1,74	57:1
2,09	47:1
Promedio = 1.81	55:1

GRÁFICO N°6: Determinación de la Razón Licor del extracto de las raíces de *Berberis hallii*.

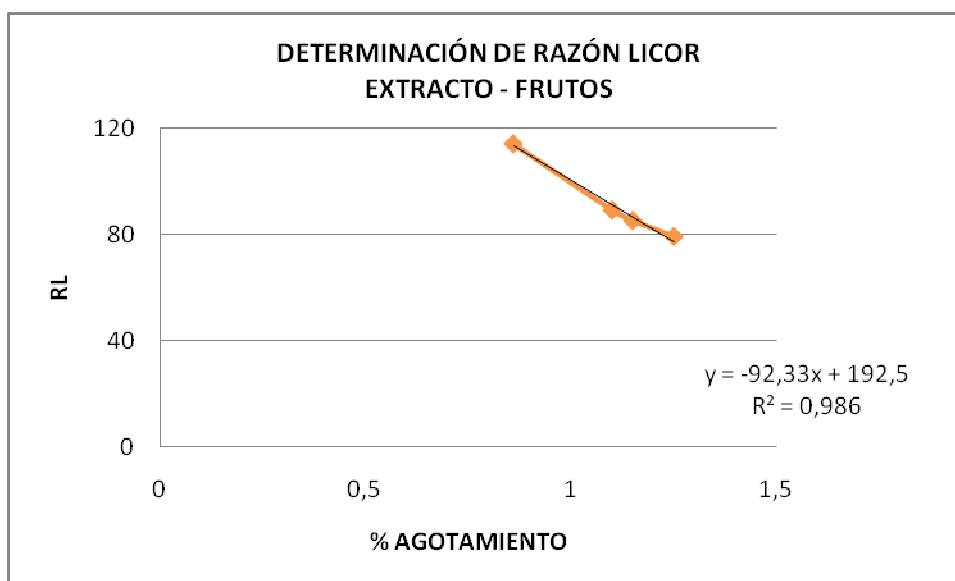


Los datos de la TABLA N° 7 representados en el GRÁFICO N°7 del extracto de frutos indican que para un promedio del % de agotamiento utilizando el extracto de los frutos la relación baño-fibra es 64:1.

TABLA N°7: Determinación de la Razón Licor del extracto de los frutos de *Berberis halliii*.

<b>% AGOTAMIENTO</b>	<b>RL</b>
1.10	89:1
1.15	85:1
0.86	114:1
1.25	79:1
Promedio = 1.08	64:1

GRÁFICO N°7: Determinación de la Razón Licor del extracto de los frutos de *Berberis halliii*.



### 3.1.2.6 APLICACIÓN DE MORDIENTES

Con la finalidad de fijar el color sobre las fibras y obtener una mayor gama de colores se utilizó como mordientes el alumbre, sulfato ferroso y dicromato de potasio, mediante mordentado anterior y posterior al teñido, evaluando los resultados en función del % de fibra teñida.

TABLA N° 8: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Anterior con el extracto de las raíces de *Berberis hallii*.

FIBRA	MORDIENTE		FIBRA TEÑIDA %	COLOR OBTENIDO
	Sustancias	ml		
LANA	Alumbre	7,5	54,24	Amarillo
	Sulfato Ferroso	5,2	99,83	Mostaza
	Dicromato de Potasio	6,0	93,89	Amarillo medio
ALGODÓN	Alumbre	7,5	97,33	Amarillo claro
	Sulfato Ferroso	5,2	93,08	Amarillo limón
	Dicromato de Potasio	6,0	97,95	Amarillo medio
POLIÉSTER	Alumbre	7,5	98,29	Amarillo claro
	Sulfato Ferroso	5,2	99,12	Amarillo limón
	Dicromato de Potasio	6,0	95,04	Amarillo medio

Fotografías de las fibras teñidas por mordentado anterior con los tres mordientes utilizados:

FOTOGRAFÍA N°5: Fibras teñidas con alumbre de morde ente.



FOTOGRAFÍA N°6: Fibras teñidas con sulfato ferroso de mordiente.



FOTOGRAFÍA N°7: Fibras teñidas con dicromato de potasio de mordiente.



Los datos obtenidos en la TABLA N° 8 representados en el GRÁFICO N°8 (Ver Anexo 6) demuestran que el teñido con mordentado anterior es eficiente con alumbre, sulfato ferroso y dicromato de potasio tanto para lana, algodón y poliéster, da una alternativa para el color mostaza en lana utilizando sulfato ferroso

Para el mordentado posterior se obtiene los siguientes resultados en la TABLA N° 9 representado en el GRÁFICO N°9 (Ver anexo 7) con los diferentes mordientes:

TABLA N°9: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Posterior con el extracto de las raíces de *Berberis hallii*.

FIBRA	MORDIENTE		FIBRA TEÑIDA %	COLOR OBTENIDO
	Sustancias	ml		
LANA	Alumbre	7,5	53,78	Amarillo
	Sulfato Ferroso	5,8	99,68	Mostaza
	Dicromato de Potasio	6,0	87,51	Amarillo medio
ALGODÓN	Alumbre	7,5	51,83	Amarillo claro
	Sulfato Ferroso	5,8	96,39	Amarillo limón
	Dicromato de Potasio	6	97,17	Amarillo medio
POLIÉSTER	Alumbre	7,5	96,93	Amarillo claro
	Sulfato Ferroso	5,8	95,77	Amarillo limón
	Dicromato de Potasio	6,0	96,6	Amarillo medio

Fotografías de las fibras teñidas por mordentado posterior con los tres mordientes utilizados:

FOTOGRAFÍA N°8: Fibras teñidas con alumbre de morde ente.



FOTOGRAFÍA N°9: Fibras teñidas con sulfato ferroso de mordiente.



FOTOGRAFÍA N°10: Fibras teñidas con dicromato de po tasio de mordiente.



Del mordentado posterior, analizando el % de fibra teñida se tiene buenos resultados con sulfato ferroso hasta un promedio de 97.28 en lana, algodón y poliéster. El dicromato de potasio da buen rendimiento para teñido de algodón y poliéster. El alumbre para el poliéster. El color varía de amarillo medio con alumbre a amarillo limón con sulfato ferroso y amarillo claro con dicromato.

Las fibras teñidas sin el mordiente, bajo las condiciones óptimas de tintura, nos da un color más intenso (amarillo oro) con un % de fibra teñida de 99.5%.

El teñido con el extracto de los frutos por mordentado anterior con alumbre como mordiente indican que los resultados obtenidos que se encuentran en la TABLA N° 10, bajo las condiciones óptimas de teñido para la lana se obtuvo un café castaño y en el caso del algodón y poliéster café rojizo.

TABLA N° 10: Teñido por Mordentado Anterior del extracto de los frutos de *Berberis hallii*, usando alumbre como mordiente

<b>FIBRA</b>	<b>FIBRA TEÑIDA %</b>	<b>MORDIENTE ml</b>	<b>COLOR OBTENIDO</b>
LANA	99.5	6.9	café castaño
ALGODÓN	97.9	6.9	café rojizo
POLIÉSTER	92.38	6.9	café rojizo

FOTOGRAFÍA N°11: Fibras teñidas con extracto de los frutos por mordentado anterior.





En el mordentado posterior los resultados están en la TABLA N° 11, al igual que el anterior bajo las condiciones óptimas y utilizando alumbre como mordiente se obtuvo una gama de colores en las fibras.

TABLA N° 11: Teñido por Mordentado Posterior del extracto de los frutos de *Berberis hallii*, usando alumbre como mordiente.

<b>FIBRA</b>	<b>FIBRA TEÑIDA</b> %	<b>MORDIENTE</b> ml	<b>COLOR</b> <b>OBTENIDO</b>
LANA	98.94	6.7	Café pardo
ALGODÓN	85.55	6.7	Café marrón
POLIÉSTER	99.88	6.7	Café

FOTOGRAFÍA N°12: Fibras teñidas con extracto de los frutos por mordentado posterior.



Según los datos obtenidos se puede determinar que para teñir la lana y el algodón con el extracto de frutos se utiliza un mordentado anterior y para el poliéster un mordentado posterior logrando porcentajes altos de fibra teñida. Pero es importante recalcar que el teñido con el extracto de frutos es inestable debido a que no presenta solidez a la luz, ebullición y lavado las fibras teñidas, además de la degradación enzimática.

Los colores resultantes de las fibras teñidas, tanto con el extracto de raíces como de frutos de *Berberis halliii*, en los dos tipos de mordentado se obtuvieron al comparar con los colores estándares que se encuentran en el ANEXO 7.

### 3.1.3 DETERMINACIÓN DE LA SOLIDEZ

La solidez es otra de las condiciones que se han estudiado sobre las muestras tinturadas bajo las mejores condiciones de Temperatura, Tiempo, pH, Concentración, Razón licor, con mordiente. La calificación de los resultados es de tipo cualitativo: MUY MALA (0-1), MALA (2), MEDIA (3) y BUENA (4), de acuerdo a la capacidad de duración del color en la fibra para lo cual se realiza la comparación con la fibra teñida inicial.

CUADRO N° 9: Determinación de la solidez a la Humedad, Ebullición, Lavado, Frote y Luz del extracto de la raíz de *Berberis halliii*.

<b>FIBRA</b>	<b>HUMEDAD</b>	<b>EBULLICIÓN</b>	<b>LAVADO</b>	<b>FROTE</b>	<b>LUZ</b>
<b>LANA</b>	4	3	4	4	4
<b>ALGODÓN</b>	3	3	3	3	4
<b>POLIÉSTER</b>	3	3	4	4	4

Según los resultados obtenidos la lana y el poliéster son las fibras que presenta una buena solidez a estos parámetros analizados, y el algodón presenta una solidez media.

CUADRO N° 10: Determinación de la Solidez del extra cto de raíces de *Berberis halliii* en Ácidos con concentración de 0.5-0.01N.

C	LANA				ALGODÓN				POLIÉSTER			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
0.5	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	1	2
0.3	2	1	2	2	1	1	2	1	2	2	2	2
0.1	2	2	2	3	2	1	2	2	2	2	2	3
0.07	3	3	3	3	2	2	2	2	3	3	2	3
0.04	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
0.01	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3

Equivalencia:

Concentración: C

Ácido Nítrico: 1

Ácido Sulfúrico: 2

Ácido Fórmico: 3

Ácido Acético: 4

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede decir que todas las fibras teñidas son inestables a la acción de los ácidos en especial a las concentraciones cercanas a 0.5N y que presentan una solidez media a concentraciones en el rango de 0,07 a 0,01N

CUADRO N° 11: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de *Berberis halliii* en Bases con concentración de 0.5-0.01N.

CONCENTRACIÓN N	LANA	ALGODÓN	POLIÉSTER
	NaOH	NaOH	NaOH
0.5	1	1	2
0.3	2	2	2
0.1	2	2	2
0.07	3	2	3
0.04	3	3	3
0.01	4	3	3

A concentraciones cercanas 0.5N de NaOH la lana es inestable tanto en su color como en su textura, en el caso del algodón y el poliéster no tiene solidez del color próxima a

0.5N, mientras que a concentraciones más diluidas de la base (0.07-0.01) su solidez es media.

CUADRO N° 12: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de *Berberis hallii* en Oxidantes con concentración de 0.5-0.01N.

CONCENTRACIÓN N	DICROMATO DE POTASIO			PEROXIDO DE HIDRÓGENO		
	LANA	ALGODÓN	POLIÉSTER	LANA	ALGODÓN	POLIÉSTER
0.5	3	3	2	3	3	2
0.3	3	3	2	3	3	2
0.1	3	3	3	4	3	3
0.07	3	3	3	4	3	3
0.04	4	4	3	4	3	3
0.01	4	4	3	4	4	3

La lana presenta una mejor solidez a los oxidantes en este rango de concentración, mientras que la fibra de algodón la solidez es buena y el poliéster presenta una solidez mala en una concentración de 0.3-0.5N y mediana a concentraciones de 0.01- 0.1N de los oxidantes.

CUADRO N° 13: Determinación de la Solidez del extracto de raíces de *Berberis hallii* a Hipoclorito de sodio con concentración de 0.5-0.01N.

NaClO C (N)	FIBRAS		
	LANA	ALGODÓN	POLIÉSTER
0.5	3	2	2
0.3	3	3	3
0.1	3	3	3
0.07	4	3	3
0.04	4	4	3
0.01	4	4	4

La fibra animal (lana) tiene mayor estabilidad al hipoclorito de sodio que es un agente blanqueador, sin embargo el algodón y el poliéster tienden una solidez media.

### 3.1.3 TEÑIDO DE LAS FIBRAS APLICANDO EL SUBEXTRACTO DE FLAVONOIDES

Con la finalidad de comprobar que los flavonoides presentes en *Berberis hallii* son los que tienen la capacidad de teñir las fibras, se realizó pruebas de teñido por mordentado anterior y posterior con el sub-extracto de flavonoides obteniendo resultados positivos. En la TABLA N° 12 se encuentran los resultados obtenidos en este análisis.

TABLA N° 12: Teñido de Fibras con el Sub-extracto de Flavonoides del extracto de raíces de *Berberis hallii* por mordentado anterior y posterior con alumbre de mordiente.

<b>Mordentado Anterior</b>			
FIBRA	FIBRA TEÑIDA %	MORDIENTE ml	COLOR OBTENIDO
LANA	99,9	6,2	Amarillo medio
ALGODÓN	97,9	6,2	Amarillo medio
POLIÉSTER	98,2	6,2	Amarillo medio
<b>Mordentado Posterior</b>			
FIBRA	FIBRA TEÑIDA %	MORDIENTE ml	COLOR OBTENIDO
LANA	99,5	6,5	Amarillo claro
ALGODÓN	97,2	6,5	Amarillo claro
POLIÉSTER	97,8	6,5	Amarillo claro

Los porcentajes de fibra teñida son similares al % de teñido con el extracto total de raíces. El color predominante es el amarillo, solo cambia la intensidad.

### 3.1.3 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA A PARTIR DEL SUBEXTRACTO ETANÓLICO DE FLAVONOIDES

Del tamizaje fitoquímico se comprobó que el extracto total y el sub-extracto etanólico libre de terpenos y alcaloides tienen como grupos fitoquímicos a fenoles y taninos. Para comprobar los metabolitos presentes se realizó una cromatografía en capa fina.

Sistema de solventes: Acetato de Etilo, Ácido acético, Ácido fórmico, Agua (100:11:11:26)

Revelador: Sulfato de Cerio

Soporte: Sílica-gel 60 F 254 (Merck)

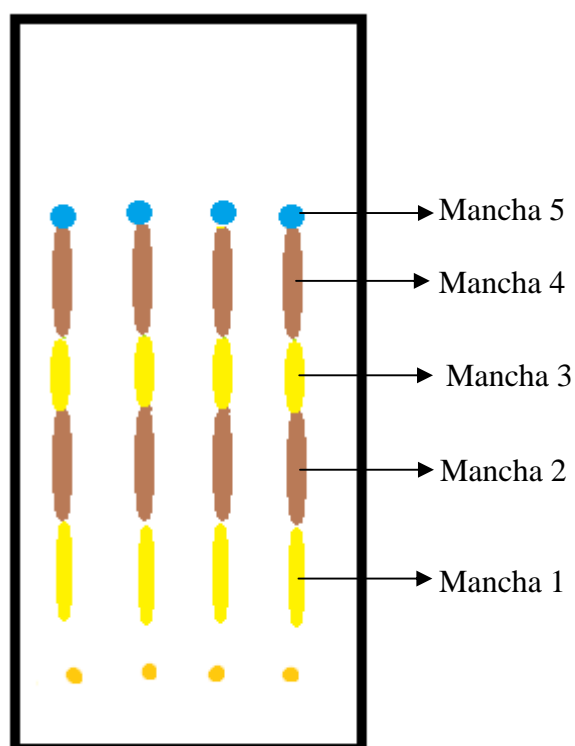


FIGURA N°7: Cromatografía en Capa fina con sus respectivos Rf del extracto de raíces *Berberis hallii*

Empezando desde el punto de aplicación de la muestra se obtuvo los siguientes Rf:

$$Rf = \frac{\text{Distancia recorrida de la muestra}}{\text{Distancia recorrida por el disolventes}}$$

TABLA N°13: Determinación de los Rf en la cromatografía en capa fina del extracto de raíces de *Berberis halliii*.

Mancha	Color	Rf	Banda
1	Amarilla	0.27	1
2	Café	0.40	2
3	Amarillo	0.51	3
4	Café claro	0.79	4
5	Azul	0.91	5

La presencia de manchas separadas, eficacia del absorbente y solvente de corrido se aplicó para separar en capa fina preparativa y analizar cada banda por Ultravioleta.

### 3.1.4 ANÁLISIS ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LAS CINCO BANDAS.

Se llevó al espectrofotómetro los compuestos de cada una de las bandas para establecer las longitudes de onda; las mismas que una vez obtenidas sirven como referencia para identificar mediante las Reglas de Woodward y Fieser que flavonoides están presentes en el extracto de raíces de *Berberis halliii*, mediante su estructura molecular estableciendo las longitudes de onda.

CUADRO N° 14: Lecturas en Espectrofotómetro (UV) de las bandas del extracto de raíces de *Berberis hallii*.

<b>BANDAS</b>	<b>λ nm</b>	<b>ABSORBANCIA (Abs)</b>	<b>Flavonoides referencia λ (nm)</b>
B1	421	0,906	
B2	205 215 241	0,222 0,260 0,411	
B3	270 279 289	3,262 3,180 3,107	270-280 (Antocianinas )
B4	421	3,054	
B5	205 233 241 261 279	0,225 0,324 0,374 2,037 2,054	250-280 (Flavonas)

Los valores de longitud de onda de referencia de los flavonoides son obtenidas según Olga Loock, la presencia de 3 picos de absorción determina que se tiene flavonoides de acuerdo a información bibliográfica.

### **3.1.5 DETERMINACIÓN DE LOS FLAVONOIDES POR MEDIO DE WOODARD – FIESER**

Aplicando las Reglas de Woodward y Fieser (Ver anexo 6 Tablas de Woodward y Fieser) se ubicó la presencia de los flavonoides en el CUADRO N° 7; con un rango de diferencia de +/- 5nm.



CUADRO N°15: Identificación de los Flavonoides presentes en las cinco Bandas del extracto de raíces de *Berberis hallii*.

<b>Banda</b>	<b>Flavonoides presentes Woodward-Fieser (+/- 5nm)</b>	<b><math>\lambda</math> nm</b>	<b>Abs</b>
<b>B1</b>		421	0,906
<b>B2</b>		205 215 241	0,222 0,260 0,411
<b>B3</b>	270 (Luteolina, Apigenina, Delfinidina-3-glucósido, Petunidina-3-glucósido, Peonidina-3-glucósido)	270	3,262
	277 (Peonidina-3-glucósido)	279	3,180
	284 (Malvidina-3-glucósido)	285	3,107
<b>B4</b>		241	3,054
<b>B5</b>	230 (Apigenina)	205 233	0,225 0,324
	237 (Luteolina)	241	0,374
	262 (Luteolina, Apigenina)	261	2,037
	256 (Delfinidina-3-glucósido, Petunidina-3-glucósido, Peonidina-3-glucósido, Malvidina-3-glucósido)		
	276 (Delfinidina-3-glucósido, Petunidina-3-glucósido, Malvidina-3-glucósido),	279	2,054

Fuente: 1. SILVERSTEIN, R. Identificación de espectrofotométrica de compuestos orgánicos, Editorial Diania, México, 1980 pp 253-268. 2. Determinación estructural de compuestos orgánicos. ([www2.uah.es/.../determinacion%20estructural/uv-visible.pdf](http://www2.uah.es/.../determinacion%20estructural/uv-visible.pdf))

Aplicando las reglas de Woodward y Fieser en los valores de longitud de onda obtenidas en cada una de las bandas y comparadas con la referencia bibliográfica se tiene que el

extracto de raíces de *Berberis hallii* encontramos flavonoides como la Luteolina y Apigenina, y antocininas como: Delfinidina-3-glucósido, Petunidina-3-glucósido, Ponidina-3-glucósido, Malvidina-3-glucósido

## CONCLUSIONES

1. Se comprobó la hipótesis “La *Berberis hallii* contiene flavonoides que tienen actividad tintorera en fibras sintéticas - poliéster y naturales - lana y algodón con mordentado anterior y posterior”, la actividad colorante de *Berberis hallii*, tiene mayor afinidad con fibra animal (lana de oveja) debido a factores como fotosensibilidad y degradaciones enzimáticas que influyen la textura, apariencia y permanencia del color; en la fibra sintética el teñido no es sólido, la gama de los amarillos de colorantes naturales que sustituyan a los colorantes artificiales que han sido descartados comercialmente debido a su toxicidad y daño en la naturaleza por la contaminación de los efluentes con productos que son biodegradables.
2. El tamizaje fitoquímico establece que el sub-extracto libre de terpenoides y alcaloides de la *Berberis hallii*, a partir de la extracción con etanol al 96% durante una maceración de 72 horas, tiene el efecto de tinción positivo y la coloración para flavonoides.
3. Se determinó que las condiciones de teñido de fibras naturales con mordentado anterior y posterior para el colorante obtenido es óptimo con buena fijación del color y sin desnaturalización del pigmento; mientras que en la fibra sintética no se tiene mismo resultado
4. El mordentado anterior y posterior permite un teñido con alto rendimiento en las tres fibras lana, algodón y poliéster con porcentajes superiores al 95%. Además una alternativa para conseguir el color mostaza en lana con sulfato ferroso.
5. La relación Baño- fibra para el teñido con extracto de raíces de *Berberis hallii* es de 55:1

6. Por cromatografía de capa fina preparativa se aislaron los diferentes flavonoides y por espectroscopia ultravioleta y aplicación de las Reglas Woodward y Fieser posiblemente se tengamos los siguientes compuestos son Luteolina, Apigenina y antocianinas como la Delfinidina-3-glucósido, Petunidina-3-glucósido, Ponidina-3-glucósido, Malvidina-3-glucósido, por los valores de longitud de onda similares reportados en bibliografía.
  
7. Las pruebas de tñido realizados con el extracto etanólico con los frutos con mordentado anterior y posterior en fibra orgánica y sintética no dan resultados satisfactorios.

## RECOMENDACIONES

1. Se recomienda que con el extracto de frutos por su alto contenido de antocianinas puede usarse como colorante para alimentos, ya que como colorante para fibras es muy inestable.
2. Como se identificó la presencia de flavonoides se recomienda realizar otras aplicaciones para estos.
3. Difundir los resultados obtenidos en esta investigación acerca de la capacidad que tiene el colorante para fijarse en la fibra animal (lana de oveja) a la industria textil y de hilandería en sectores y pueblos artesanales por ser un colorante de bajo costo y de origen natural siendo biodegradable.
4. Para el teñido se debe utilizar extractos acuosos.

## RESUMEN

La *Berberis hallii* es un arbusto conocido comúnmente como Carrasquilla contiene flavonoides que tienen actividad tintorera en fibras sintéticas (poliéster) y naturales (lana y algodón). Para comprobar la actividad se realizó pruebas de teñido, con el extracto etanólico total de raíces y el sub-extracto etanólico de flavonoides, por técnicas de teñido con mordentado anterior y posterior, conjuntamente se determinó la solidez del colorante adherido a las fibras evaluando la estabilidad a la luz, humedad, lavado, ebullición, ácidos, bases, oxidantes y blanqueadores.

Además se estableció los posibles flavonoides presentes en el extracto de raíces de la planta mediante identificación colorimétrica, separación por análisis cromatográfico y posible estructura por espectroscopia ultravioleta y aplicación de las reglas de Woodward y Fieser.

El mordentado anterior y posterior permite un teñido con alto rendimiento en las tres fibras lana, algodón y poliéster con porcentajes superiores al 95%. Pero la actividad colorante de *Berberis hallii*, tiene mayor afinidad por la fibra animal (lana de oveja), debido a factores como fotosensibilidad y degradaciones enzimáticas que influyen en la textura, apariencia y permanencia del color; en la fibra sintética el teñido no es sólido.

Esta investigación permitirá obtener una gama de amarillos de colorantes naturales que sustituyan a los colorantes artificiales que han sido descartados comercialmente debido a su toxicidad y daño en la naturaleza por la contaminación de los efluentes con productos que son biodegradables. Así como también colaborar con el emprendimiento personal de los artesanos de la provincia de Chimborazo que utilicen este colorante como una forma más práctica y económica de materia prima.

## SUMMARY

The *Berberis hallii* is a well-known shrub commonly as Carrasquilla contains flavonoides that have activity shark in synthetic fibers (polyester) and natural (wool and cotton). In order to verify the activity was carried out tests of dyeing, with the total ethanolic statement of roots and the ethanolic sub-statement of flavonoides by techniques of dyeing with mor-teething previous and subsequent, jointly the solidity of the dye adhered to the fibers evaluating the stability to the light, humidity, washing, boiling, acids, bases, oxidants and launderers.

Besides it was established the possible flavonoides present in the statement of roots of the plant by means of colorimetric identification separation by chromatographic analysis and possible structure by ultraviolet spectroscopy and application of the rules of Woodward and Fieser. The previous and later mor-teething allows to a dyeing with high performance in three fibers wool, cotton and polyester with percentages over the 95 %. But the colorant activity of *Berberis hallii*, has greater affinity by the animal fiber (wool of sheep), due to factors as photo sensibility and enzymatic degradations that influence in the texture, appearance and continuance of the color, in the synthetic fiber the dyeing is not solid.

This research will allow obtaining a range in yellow tones of natural dyes that replace the artificial that have been discarded commercially because of its toxicity and damage to nature by pollution of the effluents with products that are biodegradable. As well as collaborate with the personal undertaking of the artisans in the province of Chimborazo to use this dye as an economic and more practical form of raw material.

## BIBLIOGRAFÍA

- 1.- AGRACEJO, AGRAZONES, BERBERO, EGRESILLO, CARRASQUILLA, AGRACILLO...  
[www.infojardin.net/.../plantas.../berberis-vulgaris.htm](http://www.infojardin.net/.../plantas.../berberis-vulgaris.htm) -  
201001
- 2.- ARUTA, F. Diccionario de la Industria textil. Barcelona-España. Labor. 1969, pp 28, 29, 397, 398, 637, 639.
- 3.- BERBERIS IN TREES AND SHRUBS OF THE ANDES OF ECUADOR @ EFLORAS.ORG  
[www.efloras.org/florataxon.aspx?flora\\_id=201&taxon...](http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon...)  
201001
- 4.- BERBERIS VULGARIS  
[www.linneo.net/.../berberis\\_vulgaris/berberis\\_vulgaris.htm](http://www.linneo.net/.../berberis_vulgaris/berberis_vulgaris.htm)  
201001
- 5.- BERNAL, H. Y. y J. E. CORREA Q. Berberidaceae en: Especies promisorias vegetales de los países del Convenio Andrés Bello. 2 ed. Bogotá – Colombia. SECAB Ciencia y Tecnología. 1989, pp. 94–125
- 6.- BROVILLORD, R. Flavonoids and Flower color, in “The flavonoids Advances in Research”. Londres - Inglaterra. HARBOrNE. 1986, pp 565-588.
- 7.- CARACTERÍSTICAS DE LA LANA  
[www.edym.com/CD-tex/2p/.../cap05-1.htm](http://www.edym.com/CD-tex/2p/.../cap05-1.htm) -  
201002
- 8.- CAMARGO, L. A. Especies nuevas del género Berberis de Colombia, Ecuador y Venezuela. Bogota – Colombia. Caldasia. 1966, pp 313–351.
- 9.- CLASIFICACIÓN DE COLORANTES  
[catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/...l.../capitulo4.pdf](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/...l.../capitulo4.pdf) -  
201002
- 10.- CARACTERÍSTICAS DE LOS MORDIENTES

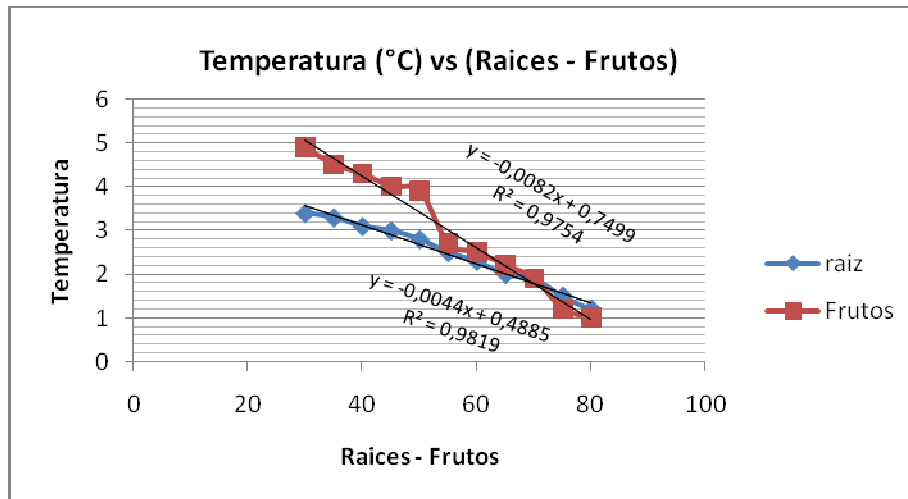


- [www.quiminet.com/.../ar\\_vcdvdaasdbcBu-clasificacion-de-MORDIENTES.htm](http://www.quiminet.com/.../ar_vcdvdaasdbcBu-clasificacion-de-MORDIENTES.htm)  
201002
- 11.- CORRALES, F. Aplicación de los Colorantes de Flor de Niachag Bidens Humilis en el Teñido de lana. Quito – Ecuador. ESPON. 1994, pp 28-68, 80-82.
- 12.- CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA  
[depa.pquim.unam.mx/~fercor/dqo/manuales/1311/p7.pdf](http://depa.pquim.unam.mx/~fercor/dqo/manuales/1311/p7.pdf)
- 13.- DOMINGUEZ, X. Métodos de Investigación fitoquímica. Ciudad de México - México. Limusa. 1973, pp 81-82
- 14.- ESPECTROMETRÍA ULTRAVIOLETA  
[http://www.espectrometria.com/espectrometra\\_ultravioleta-visible](http://www.espectrometria.com/espectrometra_ultravioleta-visible)  
201005
- 15.- FIBRA DE ALGODÓN  
[www.educared.net/.../paginaalgodon.htm](http://www.educared.net/.../paginaalgodon.htm)  
201002
- 16.- FLAVONOIDES  
[http://www.bedri.es/Libreta\\_de\\_apuntes/F/FL/Flavonoides.htm](http://www.bedri.es/Libreta_de_apuntes/F/FL/Flavonoides.htm)  
201006
- 17.- FLAVONOIDS, PHENOLIC ACIDS, AND HYDROXYCOUMARINS OF VARIOS SPECIES OF THE GENUS Berberis...  
[www.springerlink.com/index/x26u10l81268261q.pdf](http://www.springerlink.com/index/x26u10l81268261q.pdf)
- 18.- HOFFMAN, A. Flora Silvestre de Chile, Zona Araucana. 2ed. Santiago de Chile – Chile. Claudio Gay, 1991, 199p.
- 19.- HORSFALL, R y LAWRIE, L. Tratado de Tintura de las Fibras Textiles. Barcelona - España. Clarasó. 1956. Pp 24-379
- 20.- JARAMILLO, H. Artesanías en América: Colorantes naturales en el Ecuador. Quito – Ecuador. Cidao. 1984, pp 50-51
- 21.- LAS FIBRAS TEXTILES  
[www.edym.com/CD-tex/2p/matprim/.../cap03.htm](http://www.edym.com/CD-tex/2p/matprim/.../cap03.htm)  
201002
- 22.- LAS FIBRAS TEXTILES - GUÍA DE TINTORERIAS Y LAVANDERIAS  
[guia.tintorerias.com/las-fibras-textiles.html](http://guia.tintorerias.com/las-fibras-textiles.html)  
201003

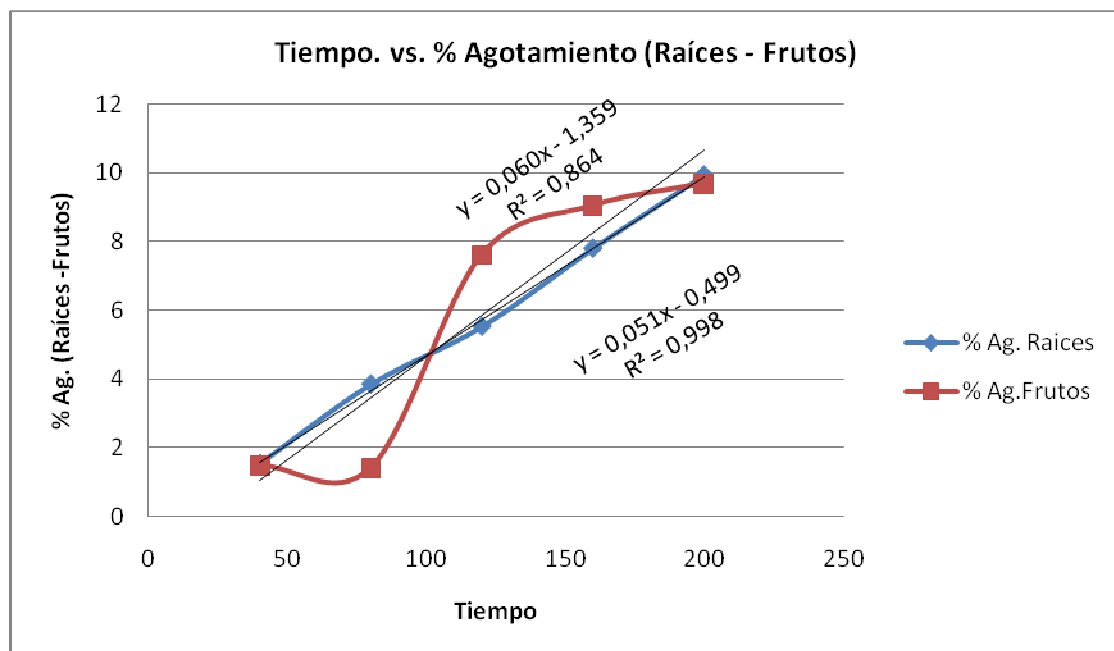
- 23.- LOCK, O. Fitoquímica “Métodos en el estudio de productos naturales”. 2ed.  
Lima-Perú. Pontificia Universidad Católica del Perú. 1994, pp 127,128
- 24.- METODOS ANALITICOS PARA LA IDENTIFICACION DE PLANTAS  
MEDICINALES  
[biblioteca.idict.villaclara.cu/UserFiles/File/.../5.pdf](http://biblioteca.idict.villaclara.cu/UserFiles/File/.../5.pdf)
- 25.- NOLLER, C. Química Orgánica. 3ed. Ciudad de México – México.  
Interamericana. 1968, pp 454-473.
- 26.- SALVAT, M. Enciclopedia de las Ciencias, Industria (Industria textil). Barcelona -  
España. Pampiona. 1972, pp 98,102-104, 122, 123
- 27.- SHARAPIN, N. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Bogotá-  
Colombia. IBEROAMERICANO. 2000, pp 198.
- 28.- SILVERSTEIN, R; y otros. Identificación Espectrométrica de Compuestos  
Orgánicos. Ciudad de México – México. Diana. 1980, pp 253-268
- 29.- TINTES NATURALES  
[http://www.nps.gov/archive/grsa/resources/curriculum/elem\\_sp/lesson24.htm](http://www.nps.gov/archive/grsa/resources/curriculum/elem_sp/lesson24.htm)  
201003
- 30.- UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE “QUÍMICA Y EVALUACIÓN  
FARMACOLÓGICA DE *Berberis buxifolia*  
[www.cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fcm672q/doc/fcm672q.pdf](http://www.cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fcm672q/doc/fcm672q.pdf)
- 31.- VARIABLES EN EL PROCESO DE TEÑIDO  
<http://bdigital.eafit.edu.co/bdigital/PROYECTO/P664.022CDC756/capitulo1.pdf>  
201004
- 32.- WAGNER, H. Plant Drug Analysis. 2 ed. New York- Estados Unidos. Springer.  
1945, pp: 195, 212.

## ANEXOS

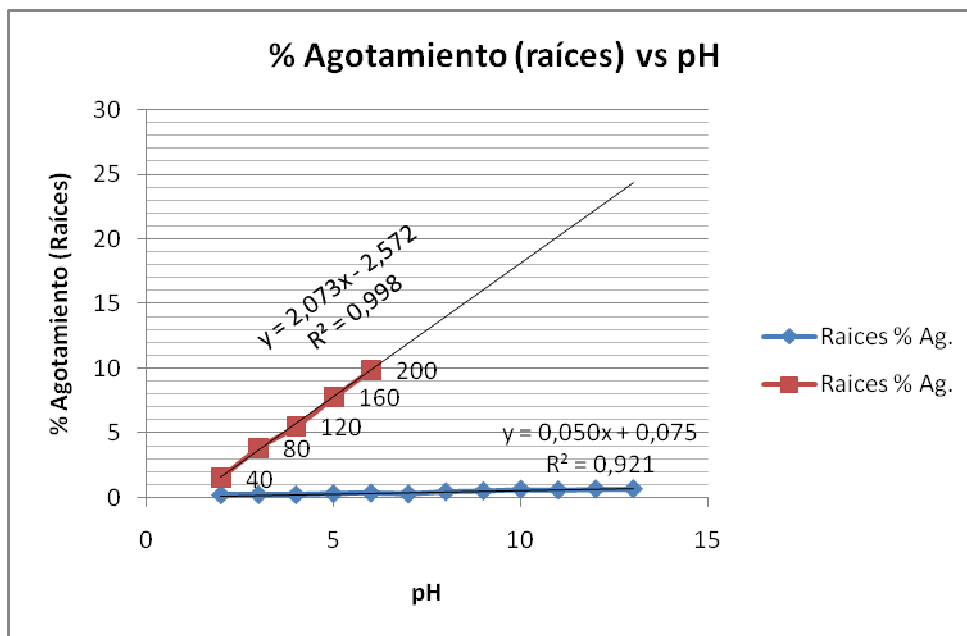
Anexo 1: GRÁFICO N°1: Determinación de la Temperatura óptima



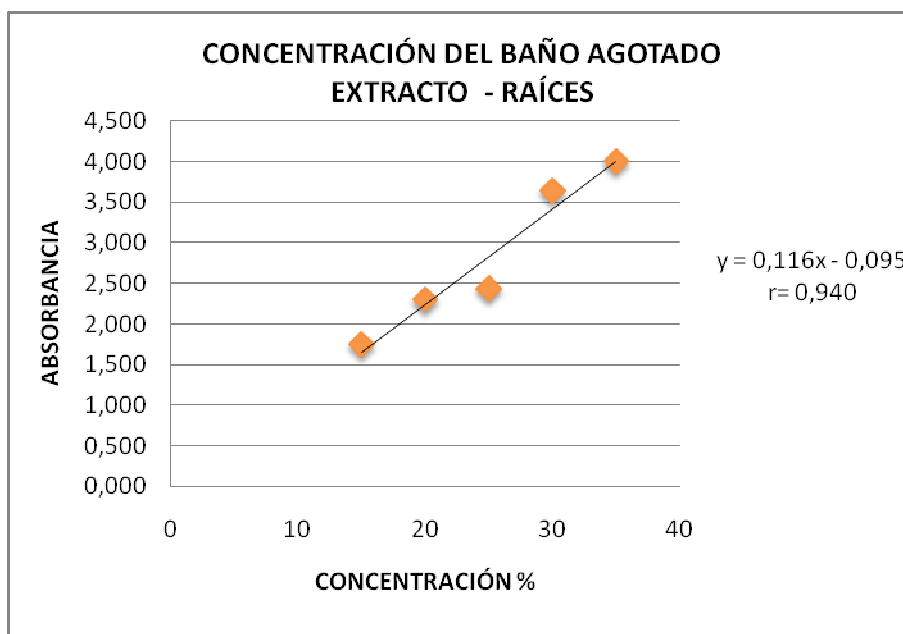
Anexo 2: GRÁFICO N°2 Determinación del Tiempo óptimo



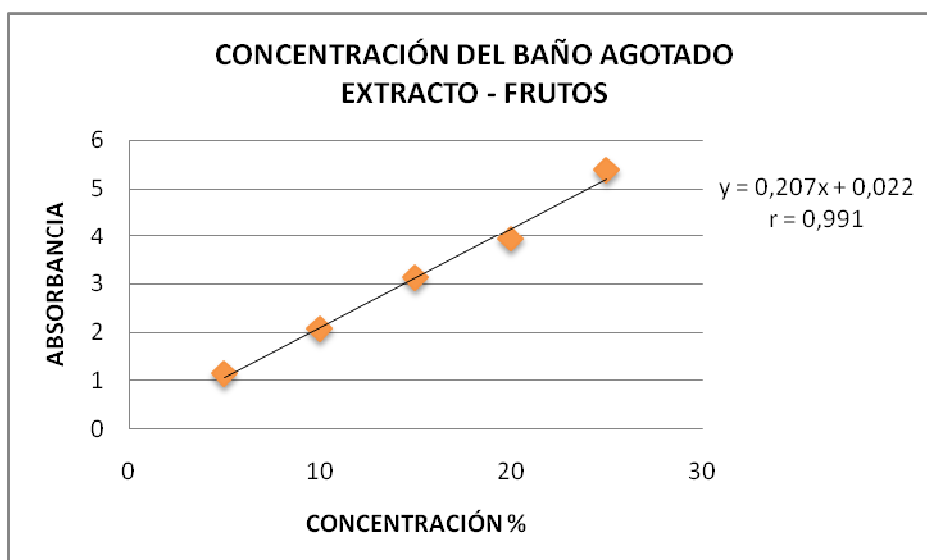
Anexo 3. GRÁFICO N°3 Determinación del pH relacionado al tiempo



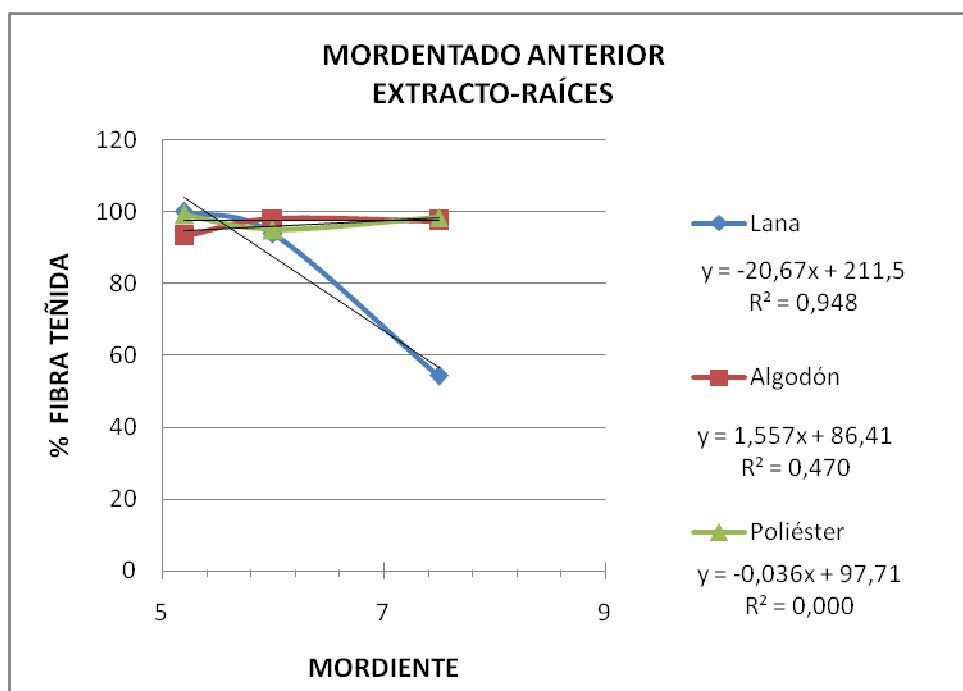
Anexo 4. GRÁFICO N°4 Concentración del Baño Agotado del extracto de raíces de *Berberis hallii*.



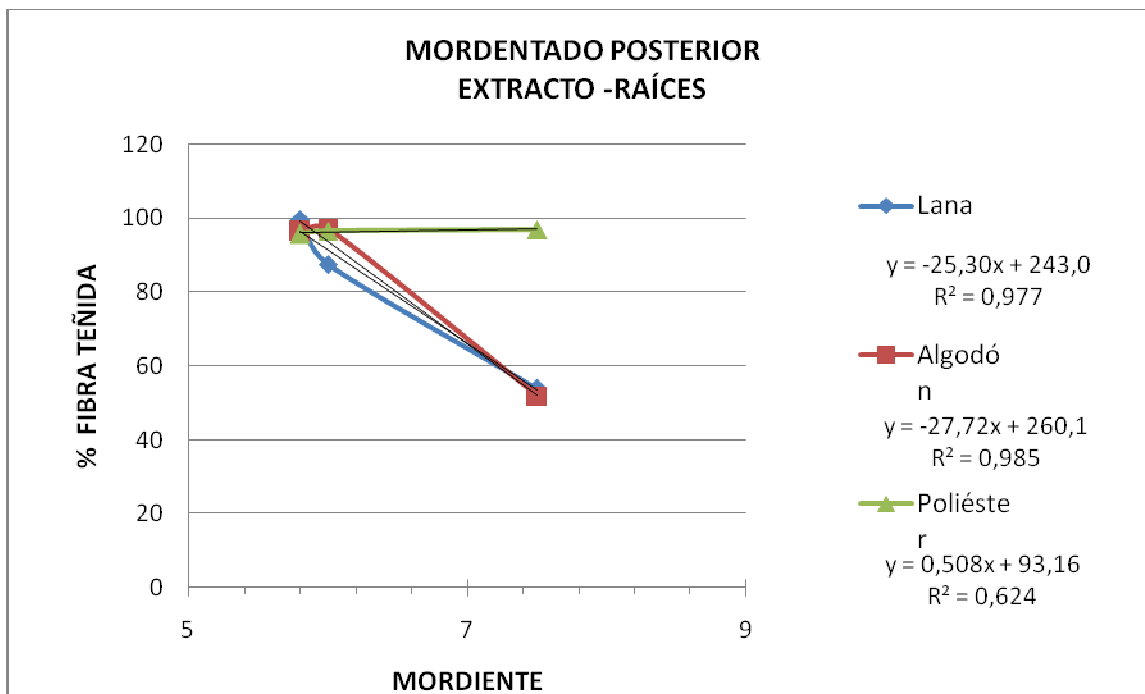
Anexo 5. GRÁFICO N°5 Concentración del Baño Agotado del extracto de fruto de *Berberis hallii*.



Anexo 6: GRÁFICO N° 8: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Anterior con el extracto de las raíces de *Berberis hallii*.



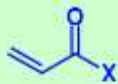
Anexo 7: GRÁFICO N° 9: Teñido de las fibras orgánicas y sintéticas por Mordentado Posterior con el extracto de las raíces de *Berberis hallii*.



Anexo 8. Tablas de las Reglas de Woodward y Fieser.

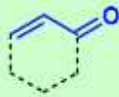
Para Acetonas y aldehídos

**Sistema básico**

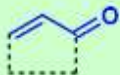


$\lambda_{max}$  (nm)

X = R	215
H	207
OH	193
OR	193



215



202

**Incrementos**

Por cada doble enlace conjugado adicional +30  
 Por cada doble enlace exocíclico +5  
 Por cada componente diénico homoanular +39  
 Por cada sustituyente del sistema conjugado

	$\alpha$	$\beta$	$\gamma$	$\delta$ o mayor
C-sustituyente	+10	+12	+18	+18
-Cl	+15	+12		
-Br	+25	+30		
-OH	+35	+30		+50
-OR	+35	+30	+17	+31
-OC(O)CH <sub>3</sub>	+6	+6	+6	+6
-NR <sub>2</sub>		+95		
-SR		+85		

**Corrección del disolvente**

Agua	+8
Etanol, metanol	0
Cloroformo	-1
Dioxano	-5
Eter	-7
Hexano, ciclohexano	-11

Para benceno y derivados

**Ejemplos de bencenos monosustituídos ( $\lambda_{max}$ )**

Sustituyente	Banda E ( $\epsilon > 30000$ )	Banda K ( $\epsilon \sim 10000$ )	Banda B ( $\epsilon \sim 300$ )	Banda R ( $\epsilon \sim 50$ )
-H	184	204	254	
-R	189	208	262	
-OH		211	270	
-OR		217	269	
-NH <sub>2</sub>		230	280	
-F		204	254	
-Cl		210	257	
-Br		210	257	
-I		207	258	
-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>		203	254	
-C=CH <sub>2</sub>		248	282	
-C≡CH	202	248	278	
-C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>		250		
-CHO		242	280	328
-C(O)R		238	276	320
-CO <sub>2</sub> H		226	272	
-CN		224	271	
-NO <sub>2</sub>		252	280	330

b

**Cálculo de la posición de la transición ( $\lambda_{max}$ )  $\pi \rightarrow \pi^*$  permitida en bencenos polisustituídos (p.391, Tablas 2001)**

Valor base: 203.5  
Incrementos por cada sustituyente:

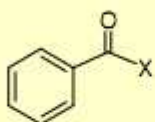
Me	3.0
Cl	6.0
Br	6.5
OH	7.0
O <sup>+</sup>	31.5
OMe	13.5
NH <sub>2</sub>	26.5
NO <sub>2</sub>	65.0
CHO	46.0
COMe	42.0
COOH	25.5



Para esteres aromáticos

**Cálculo de la posición de la banda K ( $\lambda_{\text{máx}}$ , en etanol) en aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos y esteres aromáticos**

Sistema básico:



X = H	250
Alquilo, cicloalquilo	246
OH	230
OR	230

Incrementos por cada sustituyente del anillo aromático:

	orto	meta	para
Alquilo, cicloalquilo	3	3	10
-Cl	0	0	10
-Br	2	2	15
-OH, OR	7	7	25
-O <sup>-</sup>	11	20	78
-NH <sub>2</sub>	13	13	58
-NMe <sub>2</sub>	20	20	85
-NHCOMe	20	20	45

Benceno y sustituyentes.

**Tabla XIXa. Cálculo de la banda principal (transición  $\pi \rightarrow \pi^*$ ) de los derivados de benceno sustituidos, Ar-COG (en EtOH) <sup>2,\*</sup>**

ArCOR/ArCHO/ArCO <sub>2</sub> H/ArCO <sub>2</sub> R	EtOH $\lambda_{\text{máx}}$ (nm)
Cromóforo padre: Ar = $\phi$	
G = alquilo o residuo anular (por ejemplo, ArCOR)	246
G = H, (ArCHO)	250
G = OH, OAlq, (ArCO <sub>2</sub> H, ArCO <sub>2</sub> R)	230
Incremento por cada sustituyente en Ar:	
-Alquilo o residuo anular	<i>o</i> -, <i>m</i> - + 3 <i>p</i> - +10
-OH, -OMe, -OAlq	<i>o</i> -, <i>m</i> + 7 <i>p</i> - +25
-O (oxianión)	<i>o</i> - +11 <i>m</i> - +20 <i>p</i> - +78 <sup>a</sup>
-Cl	<i>o</i> -, <i>m</i> - + 0 <i>p</i> - +10
-Br	<i>o</i> -, <i>m</i> - + 2 <i>p</i> - +15
-NH <sub>2</sub>	<i>o</i> -, <i>m</i> - +13 <i>p</i> - +58
-NHAc	<i>o</i> -, <i>m</i> - + 20 <i>p</i> - +45
-NHMe	<i>p</i> - +73
-NMe <sub>2</sub>	<i>o</i> -, <i>m</i> - +20 <i>p</i> - +85

## Anexo 9: Cartilla de colores.

### Carta de Colores

#### Colores Sudadera con Capucha (280gr2 Felpa, Poliéster 65%, Algodón 35%)

Blanco	Negro	Amarillo	Amarillo Paja	Naranja	Pistacho	Marino	Rojo
Pomelo							

#### Colores Camiseta Manga Corta (180gr2 Algodón 100%)

Blanco	Negro	Gris Oscuro	Turquesa	Royal	Azulina	Marino	Rosa Claro
Verde Grass	Verde Musgo	Pistacho	Amarillo	Mostaza	Naranja	Rojo	Rojo Chino

## Cartilla de colores textiles

Blanco 401 	Gris 412 	Amarillo Neón 440 	Aqua green 468 
Negro 402 	Turquesa 413 	Verde Neón 441 	Military green 469 
Azul cielo 403 	Púrpura 414 	Naranja Neón 442 	Antique gold 470 
Verde 404 	Naranja 415 	Rosa Neón 443 	Aubergine 471 
Azul marino 405 	Marrón 416 	Magenta 460 	Cardinal red 472 
Azul royal 406 	Beis 417 	Baby pink 461 	Flame red 473 
Verde Oscuro 407 	Amarillo medio 418 	Sapphire 464 	Violet 476 
Rojo 408 	Amarillo lemon 419 	Sky blue 465 	Light Green 474 
Burdeos 409 	Oro metallic 420 	Lilac 466 	Ice Blue 475 
Amarillo 410 	Plata metallic 430 	Apple green 467 	Fuchia 462 

- Visualización aproximada. Los tonos podrían variar ligeramente, debido a los múltiples perfiles de color que suelen aplicar los monitores e impresoras.