

PRODUCTOS NATURALES: METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACEITES ESENCIALES



UNIAGRARIA
Fundación Universitaria Agraria de Colombia

LA U VERDE
DE COLOMBIA



PRODUCTOS NATURALES: METABOLITOS SECUNDARIOS Y ACEITES ESENCIALES

MAURICIO A. SIERRA SARMIENTO

RAMÓN BARROS ALGARRA

DIOMEDES GÓMEZ PATERNINA

ADRIANA MEJÍA TERÁN

DEIVIS SUAREZ RIVERO

Fundación Universitaria Agraria de Colombia
– UNIAGRARIA–

Asamblea General

Jorge Orlando Gaitán Arciniegas
Presidente

Consejo Superior

Álvaro Zúñiga García
Presidente

Teresa Arévalo Ramírez
Teresa Escobar de Torres
Jorge Orlando Gaitán Arciniegas
Héctor Jairo Guarín Avellaneda
Emiro Martínez Jiménez
Álvaro Ramírez Rubiano

Rector

Luis Fernando Rodríguez Naranjo

Vicerrector de Investigaciones

Álvaro Mauricio Zúñiga Morales

Vicerrector de Formación

Jorge Arturo Torres Escobar

Comité Científico

Mauricio Sierra Sarmiento
Adriana Mejía Terán
Deivis Suárez Rivero

Facultad de Ingeniería

Adriana Mejía Terán

Comité Editorial

Ramón Barros Algarra
Diomedes Gómez Paternina

Concepto gráfico, diseño y armada digital

Entrelibros e-book solutions
www.entrelibros.co

Diseño

Ana María Páez Granada

Corrección de estilo

Diana Carolina Sánchez Rodríguez

Fotografías

Pixabay
Archivo Universidad Agraria de Colombia

ISBN IMPRESO: 978-958-56645-4-8

ISBN E-BOOK: 978-958-56645-5-5

© 2018 Fundación Universitaria Agraria de
Colombia - UNIAGRARIA
Bogotá D.C – Colombia



Productos Naturales: Metabólicos Secundarios y Aceites Esenciales by Fundación Universitaria Agraria de Colombia -UNIAGRARIA- is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-No Comercial-CompartirIgual 4.0 Unported License.

La publicación Productos Naturales: Metabólicos Secundarios y Aceites Esenciales es producto del área de investigación del Programa de Ingeniería Agroindustrial de la Fundación Universitaria Agraria de Colombia -UNIAGRARIA- impreso bajo el ISBN 978-958-56645-4-8 y digital con el ISBN 978-958-56645-5-5 en idioma Español. Es un producto editorial protegido por el Copyright © y cuenta con una política de acceso abierto para su consulta, sus condiciones de uso y distribución están definidos por el licenciamiento Creative Commons (CC).

Acerca de los autores



Mauricio Anibal Sierra Sarmiento

Ingeniero químico con maestría en ingeniería química de la Universidad Nacional. Con experiencia en docencia en la Fundación Universitaria Agraria de Colombia en el área de ingredientes naturales, fitoquímica y química agroindustrial, así como en el diseño, construcción y puesta en marcha de prototipos piloto para la obtención de biocombustibles.

Ramon Barros Algarra

Biólogo, especialista en sistema de gestión integrada de la calidad, medio ambiente y prevención de riesgos laborales. Auditor en sistemas de gestión Integrada. Con conocimiento en la implementación del sistema de gestión de gestión ambiental, docente de biología, zoología y sostenibilidad ambiental de Uniagraria.

Diomedes Andrés Gómez Paternina

Licenciado en química y biología de la Universidad de Córdoba, ingeniero industrial con maestría en educación del Politécnico de Monterrey y maestría en ciencias naturales de la Corporación Universitaria Minuto de Dios. Docente de química general, orgánica, bioquímica, investigador y director del grupo de investigación de la Facultad de Educación de la Fundación Universitaria Agraria de Colombia.

Adriana Mejía Terán

Ingeniera agroindustrial, especialista en proyectos pedagógicos agroindustriales, con una maestría en diseño y gestión de procesos, con experiencia en docencia, dirección universitaria y desarrollo de proyectos productivos que contribuyen al aprovechamiento de materias primas agropecuarias.

Deivis Suárez Rivero

Ingeniero Agrónomo con Maestría en Biología Vegetal con énfasis en Fisiología Vegetal. Posee amplia experiencia en la gestión de procesos y proyectos de Investigación en el área de estudios de Biomasa e Ingredientes Naturales con más de 13 publicaciones en revistas indexadas y tres libros, que le han llevado a obtener el reconocimiento que otorga Uniagraria a la investigación meritoria.

Presentación



Colombia es un país mega diverso, cuya riqueza biológica representa una ventaja competitiva importante para el país, dado a su posición geográfica, con salida a dos océanos, Atlántico y Pacífico, con una gran variedad de microclimas y pisos térmicos, con plenitud de especies vegetales cultivables en diferentes suelos y con varias cosechas al año. Es por ello que, Colombia se destaca en América del Sur por su riqueza biológica por kilómetro cuadrado, ubicándola en los primeros puestos en este sentido, a nivel mundial.

Por lo anterior, el programa de Ingeniería Agroindustrial de la Fundación Universitaria Agraria de Colombia -UNIAGRARIA- considera pertinente presentar este documento sobre Productos Naturales con temáticas específicas en metabolitos secundarios y aceites esenciales como un material de consulta para el estudio de ingredientes naturales con uso potencial en la industria cosmética.

Contenido



Introducción	7
Plantas aromáticas medicinales	8
Fitoquímica	9
Metabolitos secundarios	10
Metabolitos secundarios de las plantas	11
Clasificación de los metabolitos secundarios	12
Productos nitrogenados	13
Fenoles	14
Terpenoides	15
Aceites esenciales	16
Recolección del material vegetal	18
Procesamiento del material vegetal	19
Metodologías para el procesamiento del material vegetal	20
Métodos de extracción de sustancias naturales	21
Extracción por Hidrodestilación	22
Destilación por arrastre de vapor	23
Hidrodestilación	24
Extracción con solventes volátiles	25
Destilación por rotavapor	26
Extracción de biocompuesto por el método Soxhlet	27
Extracción con disolventes por reflujo	28
Extracción por maceración	29
Maceración en frío y caliente	30
Método de enflorado	31
Extracción por fluidos supercríticos	32
Etapas del proceso de extracción supercrítica	33
Extracción asistida por microondas (MAE)	34
Extracción asistida por ultrasonido	35
Análisis fitoquímico preliminar	36
Alcaloides	37
Alcaloides e identificación	38
Esteroles e identificación	39
Taninos e identificación	40
Fitoquímica de taninos	41
Flavonoides e identificación	42
Antraquinonas e identificación	43
Fitoquímica de antraquinonas	44
Heterósidos cardiotónicos e identificación	45
Saponinas e identificación	46
Sesquiterpenlactonas e identificación	47
Cumarinas e identificación	48
Glosario	49
Referencias	50

Introducción



Desde siempre, las plantas han tenido una importancia económica para la humanidad, pues el ser humano ha encontrado en ellas su principal fuente de alimento; ha obtenido materiales combustibles y fibras para la fabricación de papel y telas. El hombre también ha descubierto plantas productoras de tóxicos que utilizadas en pequeñas dosis alivianan los dolores, mitigan la fatiga y contrarrestan los síntomas de muchas enfermedades. También ha aprendido a extraer los aceites esenciales que utiliza en los perfumes y en los saborizantes de sus alimentos, y como si fuera poco, ha descubierto resinas utilizadas como material impermeable, como preservadores de la madera y en la fabricación de pinturas para sus habitaciones. (Pedrozo, 2004).

Es así como hoy en día, prosperan por lo menos 800 000 especies de plantas en el mundo, pero es curioso considerar que pocas han sido explotadas por el hombre. En la zona tropical es donde se ha concentrado una mayor cantidad de ellas, pero es precisamente en esta región donde la flora aun es poco conocida. El hombre ha hecho uso de unas 3 000 especies vegetales como fuentes de alimento y unas 150 de ellas han tenido importancia en el comercio mundial. (Pedrozo, 2004).

Los países del tercer mundo han sido por largo tiempo, los proveedores de abundante materia prima vegetal, permitiendo a los países industrializados, el aprovechamiento de muchos compuestos extraídos de la naturaleza, en la aplicación para satisfacer múltiples necesidades del ser humano. Sin embargo, a medida que las naciones en desarrollo, han adquirido el conocimiento, la técnica, la ciencia y la tecnología, se han ido concientizando de su propia riqueza (Bilbao, 1997).

Aproximadamente el 50 % de las tierras colombianas están constituidas por regiones de la Orinoquía y la Amazonía, las cuales son tierras casi exclusivamente de bosques y vegetación espontánea. Así, toda Colombia, desde sus cordilleras hasta sus valles, ofrece un campo privilegiado, en cuanto a flora aprovechable se refiere. En consecuencia, en los años recientes, ha nacido un inmenso interés por parte la medicina convencional acerca de los sistemas fitoterapéuticos, estrechamente relacionados con los recursos vegetales (Bilbao, 1997).



Plantas aromáticas medicinales



El uso de las plantas con fines medicinales se remonta al principio de la historia de la humanidad, 3 000 años antes de Cristo se escribió el libro más antiguo sobre plantas medicinales en China; los sumerios, 2 500 años antes de Cristo, usaron las plantas con fines curativos; los asirios conocieron un poco más de 250 hierbas medicinales. En nuestro país, esta práctica tiene sus raíces en una riquísima herencia cultural, gracias al legado de diversas culturas (indígenas, africanas y europeas) que han utilizado estas plantas con fines rituales, medicinales y gastronómicos. En general, más de 20 000 especies de plantas en el mundo contienen algún compuesto químico aromático; sin embargo, apenas se comercializan unas 200 a 250 especies entre medicinales, culinarias e industriales. En Colombia se producen y comercializan unas 156 especies de plantas medicinales y aromáticas (ICA y Alarcón, 2011).

Estas plantas contienen principios activos que ejercen una acción farmacológica beneficiosa o perjudicial sobre un organismo vivo. Su utilidad primordial es servir como medicamento que alivie la enfermedad. Por lo tanto, la droga se obtiene de las partes del vegetal que contienen los principios activos. A su vez, las plantas aromáticas son aquellas plantas medicinales cuyos principios activos están constituidos, total o parcialmente, por esencias. En este mismo sentido, las plantas condimentarias o especias son plantas aromáticas que el hombre utiliza en los alimentos para acentuar y mejorar el sabor, olor y color de los alimentos (Castro et al., 2013).



Fitoquímica



En concordancia con (Shing, 2011) citado por (Flores et al., 2014), por definición, la fitoquímica es el estudio de los componentes químicos de las plantas. La técnica más común para obtener los Principios Activos (PA) a partir de plantas es conocida como extracción y su finalidad es la separación de la materia soluble (componentes fitoquímicos) de los tejidos vegetales (materia insoluble) por acción de un disolvente.

En (Domínguez, 1973); (Reyes et al., 2010); (Shing, 2011), citados por (Flores, et al., 2014), en la búsqueda de plantas con principios activos, las pruebas químicas resultan de gran utilidad, pues se caracterizan por ser específicas, rápidas y requerir un equipo mínimo (fácil de transportar cuando es necesario), además de ser económicas. Entre todos los métodos destaca el tratamiento de los extractos con los agentes cromógenos, el AFP, el cual contempla la detección de los principales tipos de metabolitos que se encuentran relacionados con alguna actividad biológica a saber: alcoholes, alcaloides, flavonoides, compuestos carbonílicos, esteroides, índoles, ácidos grasos y azúcares, así como los correspondientes derivados de los tres últimos tipos de compuestos.

Así mismo, (Cseke et al., 2006), citado por (Flores et al., 2014) menciona que tras la extracción de los componentes químicos, la detección de estos es la etapa siguiente en un análisis fitoquímico. Y por último, (Fried y Sherma, 1996), citados también por (Flores et al., 2014) indican que algunas sustancias pueden ser observadas a simple vista (como las clorofilas y algunos otros pigmentos), mientras que la detección de sustancias incoloras se realiza mediante el análisis de placas cromatográficas.



Metabolitos secundarios



Las plantas producen una amplia gama de compuestos orgánicos que no están involucrados en el metabolismo primario, es decir, que no poseen roles reconocidos en los procesos de asimilación, respiración, transporte y diferenciación y que también difieren de los metabolitos primarios, por tener una distribución restringida en el reino vegetal, lo que significa que un producto secundario en particular, el metabolito secundario, generalmente se halla solo en una especie o en un grupo de especies taxonómicamente relacionadas (Taiz y Zeiger, 2002).

A través del tiempo, el hombre ha hecho uso de los metabolitos secundarios con diversos propósitos, entre los que pueden mencionarse el uso como saborizantes, colorantes, fragancias, insecticidas, drogas medicinales y adictivas, y cosméticos (Salisbury y Ross, 1992).

El principal rol metabólico atribuido a estos grupos de sustancias es la protección frente al ataque de herbívoros y las infecciones microbianas o virales, aunque también funcionan como atrayentes de insectos polinizadores y como agentes de competición planta-planta (Azcón y Talón, 2000).

Los metabolitos secundarios que contienen nitrógeno incluyen a los alcaloides, aminoácidos, aminas, glucósidos cianogénicos y glucosinolatos. Los no nitrogenados se dividen en terpenoides, poliacetilenos, policétidos y fenilpropanoides (Sepúlveda et al., 2007).



Metabolitos secundarios de las plantas

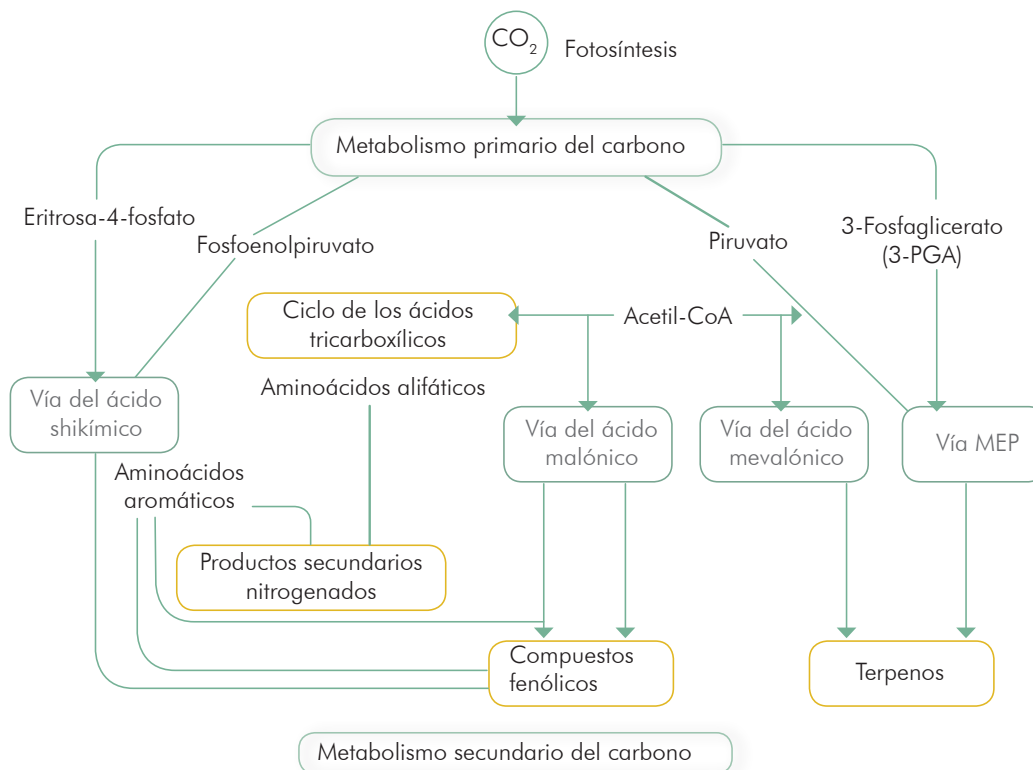


Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos tienen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios que se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales (García y Pérez, 2009).

La síntesis de metabolitos secundarios depende de la etapa de desarrollo de la planta y sus niveles constitutivos solo se incrementan como parte de la respuesta al estrés abiótico o biótico. Este aumento en los niveles de metabolitos secundarios, es importante para la supervivencia de las plantas, ya que su síntesis se deriva del metabolismo primario y porque algunos compuestos son tóxicos para la misma planta. Es así como algunos metabolitos secundarios constituyen una parte importante de la respuesta de la defensa de las plantas sometidas a heridas y al ataque por parte de las plagas. (Sepúlveda et al., 2007).



Clasificación de los metabolitos secundarios



Para clasificar los metabolitos secundarios se han utilizado muchos puntos de vista, aunque en todos ellos es inevitable la superposición. Los criterios clasificatorios de mayor aceptación son: la estructura química, el origen biogenético, la acción biológica y la actividad farmacológica. (Pedrozo, 2004).

Muchos de los metabolitos secundarios también reciben la denominación de productos naturales y tienen un importante y significativo valor medicinal y económico, derivado este último de su uso en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica. Un gran número de estos productos naturales, que ya se usaban en la medicina antigua como remedios para combatir enfermedades, se utilizan en la actualidad como medicamentos, resinas, gomas, potenciadores de sabor, aromas y colorantes, entre otros. (García y Pérez, 2009).

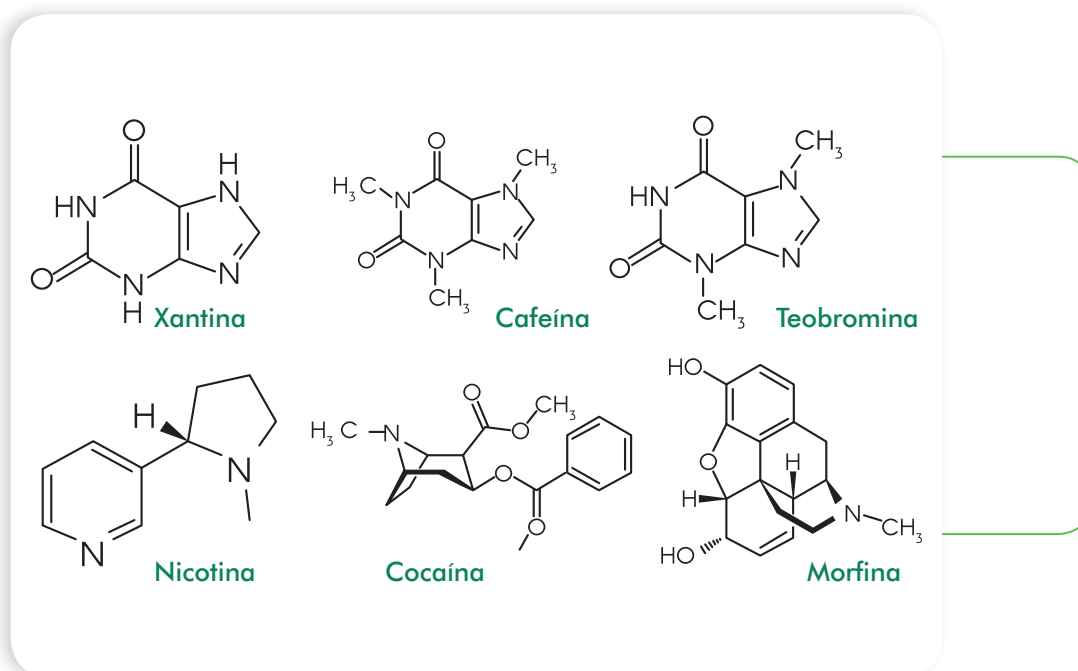
Hay que entender que la diferencia entre metabolitos primarios y metabolitos secundarios es solo funcional, por lo que la divergencia entre las vías bioquímicas es difusa, y a veces un compuesto es considerado un metabolito primario, pero por la acción de una sola enzima se convierte en lo que se considera un metabolito secundario.

También hay compuestos clasificados como metabolitos secundarios que cumplen funciones primarias en las plantas (Valencia, 2013).

Siguiendo la clasificación de (Taiz y Zeiger, 2006), los metabolitos secundarios se clasifican en: productos nitrogenados, productos fenólicos y terpenoides.



Productos nitrogenados



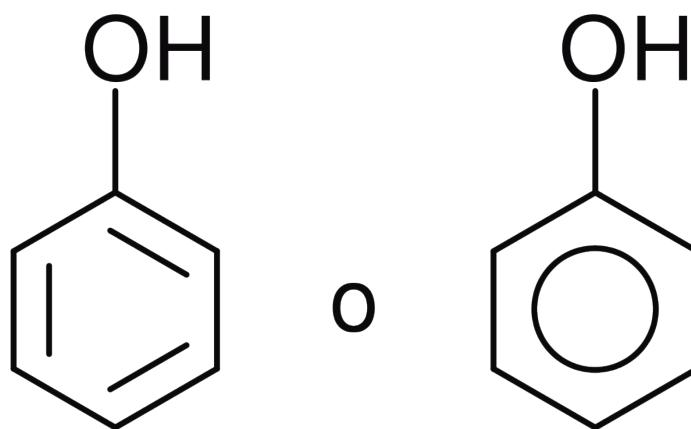
Según (Sajc et al., 2000) en (Pérez y Jiménez, 2010), los compuestos nitrogenados son principalmente los alcaloides y glucósidos cianogénicos. Los alcaloides son un diverso grupo de compuestos con cerca de 4 000 estructuras conocidas. Estos son fisiológicamente activos en humanos (cocaína, nicotina, morfina) y por supuesto de gran interés para la industria farmacológica. Por otra parte, para (Bennett y Wallsgrove, 1994), en (Pérez y Jiménez, 2010), los glucósidos cianogénicos, se consideran posiblemente, los metabolitos secundarios con mayor relación en las funciones de defensa.

Para (Villar, 1999) citado en (Valencia, 2013), los aminoácidos son la unidad estructural básica de las proteínas, alcaloides y purinas. La biosíntesis de los alcaloides se basa en la reacción de los aminoácidos con otros metabolitos como acetato o mevalonato o incluso por la adición de amoníaco o alquilaminas a un esqueleto terpénico. Posteriormente se producen diversas reacciones que dan lugar a la variedad de grupos estructurales existentes en los alcaloides.

Los alcaloides presentan unos caracteres comunes que los diferencian de los demás compuestos secundarios, pues son moléculas orgánicas más o menos complejas, de carácter básico, presentan uno o más átomos de nitrógeno formando parte de un heterociclo; se sintetizan de aminoácidos o de sus derivados inmediatos y son sustancias con cierta toxicidad, preferentemente activas sobre el sistema nervioso central (Azcón y Talón, 2000).



Fenoles



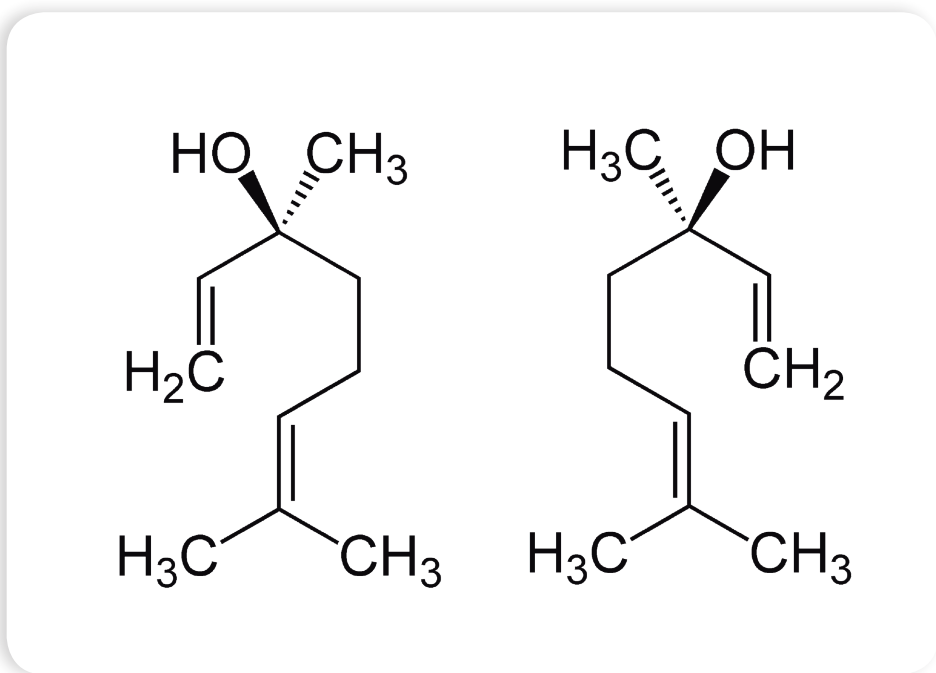
La presencia de fenoles es una característica de todos los tejidos vegetales. Los fenoles son compuestos de estructura aromática con uno o varios grupos hidroxilo, libres o sustituidos. El compuesto básico es el fenol, pero la mayor parte de estos compuestos son polifenoles. Entre los polifenoles vegetales, de los que actualmente se conocen más de 8 000, figuran las quinonas fenólicas, las cumarinas, los lignanos, los estilbenos y los flavonoides. Además de las estructuras monoméricas y diméricas, existen importantes grupos de polímeros fenólicos, como las ligninas y los taninos. También se encuentran unidades fenólicas entre los compuestos nitrogenados, de los que un buen ejemplo es el aminoácido aromático tirosina (Azcón y Talón, 2000).

Los componentes fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte importante de la dieta humana. Hoy en día, existe un gran interés en el estudio de estos metabolitos secundarios, debido a sus propiedades antioxidantes, su participación en procesos sensoriales de los alimentos naturales y procesados, además de sus posibles aplicaciones benéficas para la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio (Porras et al., 2009).

Según (Shahidi y Naczk, 2004), citado por (Porras et al., 2009), los fenoles que son esenciales para el crecimiento y la reproducción de las plantas, también tienen acción como antibióticos, pesticidas naturales, agentes protectores de rayos UV y aislantes en las paredes celulares.



Terpenoides



Los terpenos o terpenoides constituyen el grupo más numeroso de metabolitos secundarios (más de 40 000 moléculas diferentes). La ruta biosintética de estos compuestos da lugar tanto a metabolitos primarios como secundarios de gran importancia para el crecimiento y supervivencia de las plantas. Entre los metabolitos primarios se encuentran hormonas (giberelinas, ácido abscísico y citoquininas), carotenoides, clorofilas y plastoquinonas (fotosíntesis), ubiquinonas (respiración) y esteroides (de gran importancia en las estructuras de membranas). Suelen ser insolubles en agua y derivan todos ellos de la unión de unidades de isopreno (cinco átomos de carbono). Se sintetizan a partir de metabolitos primarios por dos rutas: la del ácido mevalónico, activa en el citosol, en la que tres moléculas de acetil-CoA se condensan para formar ácido mevalónico que reacciona hasta formar isopentenil difosfato (IPP), o bien la ruta del metileritritol fosfato (MEP) que funciona en cloroplastos y genera también IPP (García y Pérez, 2009).

Los terpenos constituye uno de los tipos de compuestos volátiles mayoritarios en flores y en frutos (Zacarés, 2008).

Los terpenos de las plantas son extensamente usados por sus cualidades aromáticas. Juegan un rol importante en la medicina tradicional, y se investigan sus posibles efectos antibacterianos y otros usos farmacéuticos. Están presentes en las esencias del eucalipto, los sabores del clavo, el jengibre, en el citral, mentol, alcanfor y los cannabinoides (Viteri, 2012)



Aceites esenciales



Los aceites esenciales, en general, constituyen del 0,1 al 1 % del peso seco de la planta. Son líquidos con escasa solubilidad en agua, solubles en alcoholes y en disolventes orgánicos. En cuanto a su composición química, a excepción de las esencias derivadas de heterósidos (como la de las almendras amargas y mostaza), son generalmente mezclas complejas de constituyentes muy variables que pertenecen, de forma casi exclusiva, al grupo de los terpenos y, en menor medida, al grupo de los compuestos aromáticos derivados del fenilpropano (aldehído cinámico, eugenol, anetol, aldehído anísico y safrol, entre otros) (López, 2004).

Según (Camargo y Rodríguez, 2008), citado por (Stashenko, 2009), los aceites esenciales en las plantas pueden encontrarse en las diferentes células oleíferas (jengibre, cúrcuma, vainilla), en los canales secretorios (pino, artemisia, anís, angélica), estar presente en las glándulas (cítricos, eucaliptos) o en los tricomas (muchas plantas de las familias labiadas, asteráceas, solanáceas, geraniáceas). El material vegetal (planta aromática), al ser sometido al vapor de agua, libera una mezcla odorífera líquida (aceite esencial) de una gran variedad de sustancias volátiles, que recuerdan el olor, en forma muy concentrada, de la misma planta. Esta mezcla puede tener desde 50 hasta más de 300 sustancias químicas y está compuesta por hidrocarburos terpénicos, sus derivados oxigenados, alcoholes, aldehídos y cetonas, así como por éteres, ésteres, compuestos fenólicos, fenilpropanoides y otros derivados.





Los aceites esenciales se encuentran ampliamente distribuidos en unas 60 familias de plantas que incluyen las Compuestas, Labiadas, Lauráceas, Mirtáceas, Pináceas, Rosáceas, Rutáceas, Umbelíferas, etc. Los aceites esenciales son las fracciones líquidas volátiles, generalmente destilables por arrastre con vapor de agua, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética (perfumes y aromatizantes), de alimentos (condimentos y saborizantes) y farmacéutica (saborizantes). Desde el punto de vista químico y a pesar de su composición compleja con diferentes tipos de sustancias, los aceites esenciales se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de sustancias que son los componentes mayoritarios. Según esto, los aceites esenciales ricos en monoterpenos se denominan aceites esenciales monoterpenoides. Los ricos en sesquiterpenos son los aceites esenciales sesquiterpenoides. Los ricos en fenilpropanos son los aceites esenciales fenilpropanoides. Aunque esta clasificación es muy general resulta útil para propósitos de estudiar algunos aspectos fitoquímicos de los monoterpenos, los sesquiterpenos y los fenilpropanos (Martínez, 1996).

Mediante extracción se obtiene en una forma muy concentrada que se emplea en los diversos usos industriales. La mayoría de ellos, son mezclas muy complejas de sustancias químicas. La proporción de estas sustancias varía de un aceite a otro, y también durante las estaciones, a lo largo del día, bajo las condiciones de cultivo y genéticamente (Bermúdez, 2009).



Recolección del material vegetal



Las muestras de materia vegetal se recolectan en la época elegida, antes, durante o tras la floración. Se obtiene una muestra completa de hojas, flores y tallos y raíces en caso de que interese estudiar algún principio activo contenido en ellas. Se dejan secar al aire hasta peso constante, y se separan hojas, tallos y flores, pesando cada una de las submuestras. Si es necesario, las plantas se trituran con un molinillo, aunque la molienda se puede llevar simplemente a mano, en pequeños trozos. Los aceites esenciales constituyen la fracción volátil de los principios activos contenidos en una planta. Por tanto, se obtienen mediante técnicas de destilación, en la que se volatilizan estos principios por calor, se condensan en frío y se recogen (Bermúdez, 2009).

Según (Bilbao, 1997) y (Pedrozo, 2004); citados por (Barreto, 2009), las plantas deben ser secadas para su extracción. Así, la planta se debe limpiar, separar en sus partes y es esencial que la operación de secado sea llevada a cabo bajo condiciones controladas, para evitar la ocurrencia de algunas transformaciones químicas extrañas. Los órganos vegetales deben ser secados, utilizando temperaturas por debajo de los 40 °C y, preferiblemente con una buena corriente de aire, para asegurar un contenido de humedad no mayor al 10 %. El material vegetal seco se debe pulverizar para romper los tejidos celulares y permitir una mayor superficie de contacto material-solvente; tal procedimiento se debe hacer utilizando un molino apropiado, limpio y que no genere mucho calor.



Procesamiento del material vegetal



Laboratorio de ingredientes naturales de la Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

Según (Bilbao, 1997) y (Pedrozo, 2004); citados por (Barreto, 2009), la forma más precisa de extracción depende la textura y el contenido acuoso del material vegetal a extraer y del tipo de sustancia que se va a aislar. Los metabolitos secundarios pueden ser volátiles, oleoresinosos, resinosos sólidos, termolábiles, termoestables, lipofílicos e hidrofílicos. Teniendo en cuenta todas estas características se puede seleccionar entre una o más técnicas de extracción. Si la extracción es hecha a un material vegetal al cual se le va a comprobar una actividad biológica es preferible hacerla por maceración en frío y en lo posible, las temperaturas de tratamiento no deben sobrepasar los 40 °C para evitar la degradación de metabolitos termolábiles.

La extracción por maceración consiste en tener el material vegetal en contacto con un líquido solvente frío, en recipientes de vidrio o de acero inoxidable. Esta operación requiere un tiempo más o menos largo (96 horas como mínimo y un tiempo ideal de 8 días), y generalmente va acompañada de trituración mecánica del material. Es el método más recomendable para extraer sustancias termolábiles (Pedrozo, 2004).

“La homologación de técnicas fitoquímicas recomienda hacer extracción sucesiva con dos solventes de polaridad creciente, empleando primero el de menor polaridad y luego el de mayor polaridad” (Bilbao, 1997).



Metodologías para el procesamiento del material vegetal



Técnicas de caracterización - laboratorio de ingredientes naturales. Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

Según (Arévalo, 1996), citado por (Lizcano y Bergara, 2008), las metodologías “deben obedecer a la información de la naturaleza química de las sustancias presentes en la planta y al propósito de la investigación. En el caso de búsqueda de sustancias para la comprobación de actividad biológica, la extracción del material vegetal debe hacerse en agua o con solución disotónica (0.9 % NaCl). Frecuentemente se usa la extracción con solventes orgánicos de bajo punto de ebullición (alcohol, acetato de etilo) y de baja reactividad. Algunas veces es conveniente desengrasar el material vegetal con éter de petróleo (extracto etéreo) o hexano. El alcohol es generalmente más eficaz para recuperar la mayoría de los metabolitos secundarios. Los extractos son evaporados bajo presión reducida o liofilizados, en el caso de extracción con agua.

Los métodos de extracción se basan en las diferentes solubilidades de los diversos compuestos encontrados en el material vegetal, así, para sustancias de baja polaridad (lípidos) se utilizan como solventes el éter de petróleo y cloroformo; para sustancias de mediana y alta polaridad el acetato de etilo, el etanol y la acetona. Las extracciones se pueden hacer por “extracción continua en Soxhlet”, en la cual el material seco se sitúa en una cámara central y el solvente se hace evaporar en caliente, en un recipiente inferior, el vapor del solvente asciende al condensador y gotea sobre el material vegetal. Por “reflujo”, el material vegetal y el solvente se colocan en un balón el cual tiene acoplado un refrigerante, se calienta, el solvente evaporado se condensa y vuelve a mezclarse con el material vegetal. Y por “maceración en frío”, el material se mezcla con el solvente triturado continuamente en frío.”



Métodos de extracción de sustancias naturales



Las plantas contienen un amplio rango de componentes bioactivos como lípidos, fitoquímicos, farmacéuticos, sabores, fragancias y pigmentos. Los extractos vegetales son ampliamente usados en la alimentación e industria farmacéutica. Las técnicas de extracción han sido ampliamente estudiadas para obtener tales componentes naturales de plantas de gran valor para su comercialización. El método tradicional de extracción Soxhlet, el cual ha sido usado por muchas décadas, es muy prolongado y requiere relativamente grandes cantidades de solventes. Existe un incremento en la demanda de nuevas técnicas de extracción con tiempos reducidos y disminución del uso de solventes orgánicos (Rojas, 2009). Según (Wang, 2006), citado por (Rojas, 2009), métodos novedosos de extracción incluyen la extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, extracción por fluidos supercríticos y extracción acelerada por solventes, los cuáles son técnicas rápidas y eficientes para usarlas en la extracción de los componentes químicos de las plantas.

Para (Chemat et al., 2005), citado por (Rojas, 2009), en general, un procedimiento analítico para aceites esenciales y aromas de plantas o especias comprende dos pasos: extracción (destilación por arrastre de vapor, hidrodestilación, extracción por Soxhlet, extracción asistida por ultrasonido, extracción asistida por microondas, etc.) y análisis (cromatografía de gases, cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas).

A continuación se explican brevemente las técnicas de laboratorio fitoquímicas para la extracción estandarizada de compuestos naturales.



Extracción por Hidrodestilación



Planta piloto para la extracción de aceites esenciales. Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

Según (Wankat, 1988), citado por (Peredo et al., 2009), “en la destilación por arrastre de vapor de agua se lleva a cabo la vaporización selectiva del componente volátil de una mezcla formada por este y otros no volátiles”. Lo anterior se logra por medio de la inyección de vapor de agua directamente en el seno de la mezcla, denominándose este ‘vapor de arrastre’ pero en realidad su función no es la de ‘arrastrar’ el componente volátil, sino condensarse, formando otra fase inmiscible que cederá su calor latente a la mezcla a destilar para lograr su evaporación.

En este caso se tendrá la presencia de dos fases inmiscibles a lo largo de la destilación (orgánica y acuosa). Por lo tanto, cada líquido se comportará como si el otro no estuviera presente. Es decir, cada uno de ellos ejercerá su propia presión de vapor y corresponderá a la del líquido puro a una temperatura de referencia. La condición más importante para que este tipo de destilación pueda ser aplicado es que tanto el componente volátil como una impureza sean insolubles en agua, ya que el producto destilado ‘volátil’ formará dos fases al condensarse, lo cual permitirá la separación del producto y del agua fácilmente. La presión total del sistema será la suma de las presiones de vapor de los componentes de la mezcla orgánica y del agua. Sin embargo, si la mezcla a destilar es un hidrocarburo con algún aceite, la presión de vapor del aceite al ser muy pequeña se considera despreciable (Peredo, et al., 2009).



Destilación por arrastre de vapor



De acuerdo con (Fair, 1987), citado por (Peredo et al., 2009), en la destilación por arrastre es posible utilizar un gas inerte para el arrastre. Sin embargo, el empleo de vapores o gases diferentes al agua implica problemas adicionales en la condensación y recuperación del destilado o gas. El comportamiento que tendrá la temperatura a lo largo de la destilación será constante, ya que no existen cambios en la presión de vapor o en la composición de los vapores de la mezcla. Existe una gran diferencia entre una destilación por arrastre y una simple, ya que en la primera no se presenta un equilibrio de fases líquido-vapor entre los dos componentes a destilar como se da en la destilación simple.

Por lo tanto, no es posible realizar diagramas de equilibrio, ya que en el vapor nunca estará presente el componente 'no volátil', mientras esté destilando el volátil. Además, en la destilación por arrastre de vapor el destilado obtenido será puro en relación al componente no volátil (aunque requiera de una decantación para ser separado del agua), algo que no sucede en la destilación simple, en la cual el destilado sigue presentando ambos componentes, aunque más enriquecido en alguno de ellos. Por otra parte, si este tipo de mezclas con aceites de alto peso molecular fueran destiladas sin la adición del vapor se requeriría de gran cantidad de energía para calentarlas y se emplearía mayor tiempo, pudiéndose descomponer si se trata de aceites esenciales (Peredo et al., 2009).



Hidrodestilación



Extracción a nivel laboratorio por Hidrodestilación. Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

De acuerdo con (Bandoni, 2000), citado por (Albarracín y Gallo, 2003), el principio de la destilación en agua es llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal aromático, de tal manera que los vapores generados puedan ser condensados y colectados. El aceite, que es inmisible en agua, se separa posteriormente. En la destilación con agua, el material vegetal siempre debe encontrarse en contacto con el agua, si el calentamiento del equipo es con fuego directo, el agua presente en la cámara extractora debe ser suficiente y permanente para llevar a cabo toda la destilación, a fin de evitar el sobrecalentamiento y carbonización del material vegetal, dado que este hecho provoca la formación de olores desagradables en el producto final; el material vegetal debe ser mantenido en constante agitación, a fin de evitar aglomeraciones o sedimentación del mismo en el fondo del recipiente, lo cual puede provocar su degradación térmica.

De igual manera, (Bandoni, 2000), citado por (Albarracín y Gallo, 2003) asegura que el tiempo total de destilación es función de los componentes presentes en el aceite esencial. Si el aceite contiene compuestos de alto punto de ebullición, el tiempo de destilación deberá ser mayor, los aceites esenciales obtenidos mediante destilación en agua normalmente presentan notas más fuertes y un color más oscuro con respecto a los producidos por otros métodos.



Extracción con solventes volátiles



De acuerdo con (Martínez, 2003), citado por (Peredo et al., 2009), en el método de extracción con disolventes volátiles, la muestra seca y molida se pone en contacto con disolventes orgánicos tales como alcohol y cloroformo, entre otros. Estos disolventes solubilizan la esencia pero también solubilizan y extraen otras sustancias tales como grasas y ceras, obteniéndose al final una oleoresina o un extracto impuro. Se utiliza a escala de laboratorio porque a nivel industrial resulta costoso por el valor comercial de los disolventes, porque se obtienen esencias contaminadas con otras sustancias, y además por el riesgo de explosión e incendio característicos de muchos disolventes orgánicos volátiles.

Dentro de este método se engloban muchos procedimientos diferentes que incluyen la utilización de distintos tipos de solventes, desde el caso de derivados del petróleo hasta la utilización de CO₂ líquido. (Ortuño, 2006).

“En la extracción de aceites esenciales existen algunos disolventes que tienen un límite máximo de residuos que pueden dejar en los productos y que varían según las diferentes legislaciones” (Ortuño, 2006).

La extracción con disolventes derivados del petróleo, tiene la ventaja sobre la hidroddestilación en que los aceites esenciales extraídos representan mejor el perfume original de las flores (Ortuño, 2006).



Destilación por rotavapor



Equipo de destilación por rotavapor - Laboratorio de Ingredientes naturales. Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

Se suele utilizar como disolvente éter de petróleo purificado, que es una mezcla de hidrocarburos de bajo peso molecular (fundamentalmente hexano). Este disolvente tiene buenas propiedades pese al inconveniente de su inflamabilidad. El máximo punto de ebullición de esta mezcla no debe exceder los 75 °C y no debe contener compuesto aromáticos (Ortuño, 2006).

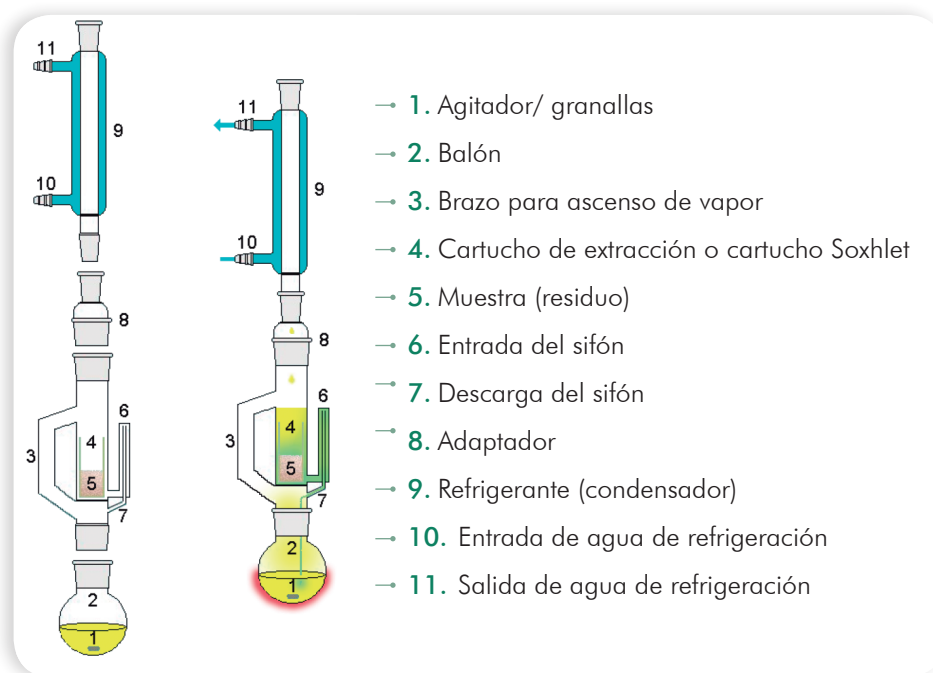
Una vez evaporado el disolvente queda una masa más o menos viscosa según la materia prima de que se trate, que contiene el aceite esencial junto con gran cantidad de ceras, resinas y pigmentos procedentes de la materia prima; esta sustancia se conoce como «concreto» (Ortuño, 2006).

El concreto es extraído varias veces con alcohol en batidoras. El líquido o extracto se enfría a $-13\text{ }^{\circ}\text{C}$ para eliminar todo rastro de ceras insolubles, se filtra y se evapora el alcohol a presión reducida, quedando el aceite esencial «absoluto». El sólido insoluble que también se obtiene del filtro es la mezcla de resinas y pigmentos (Ortuño, 2006).

Es decir que en conjunto se realizan dos procesos de extracción acoplados. El primero, realizado sobre las flores, utilizando hexano rinde el concreto. El segundo, realizado sobre el concreto, rinde el aceite esencia o absoluto. Las dos extracciones son del tipo sólido-líquido (Ortuño, 2006).



Extracción de biocompuesto por el método Soxhlet



Según (Thongson et al., 2004), citado por (Peredo et al., 2009), “dentro de los métodos más usados a nivel de laboratorio son mediante el equipo Soxhlet y el de extracción por reflujo.”

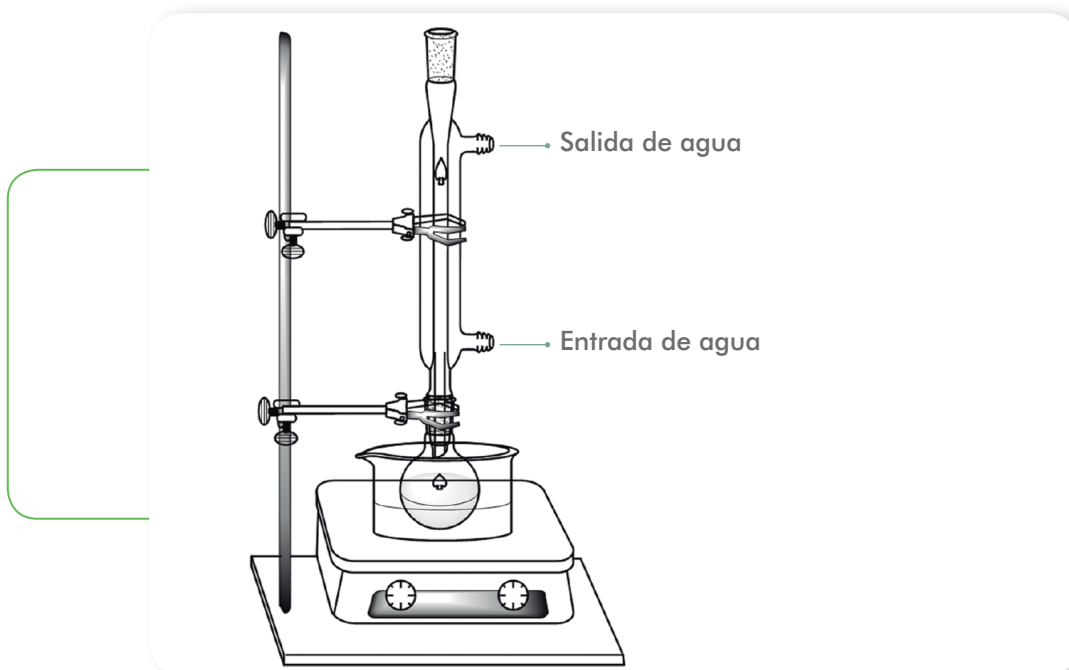
De acuerdo con (Fidalgo, 2007) citado por (Canosa, 2009), Soxhlet es la técnica más antigua para la extracción de compuestos orgánicos en matrices sólidas. Desarrollada en 1879, sigue siendo hoy en día, una técnica aceptada por la EPA y usada como procedimiento de referencia con respecto al que se validan otras técnicas más actuales.

La extracción exhaustiva de componentes orgánicos en un sistema Soxhlet se lleva a cabo usando un disolvente orgánico, el cual refluye a través de la muestra contenida en un dedal poroso de celulosa o vidrio. Las ventajas más importantes de la extracción Soxhlet son el contacto continuo de la muestra con una porción fresca de disolvente, simplicidad, bajo coste de adquisición y la posibilidad de procesar grandes cantidades de muestra (Canosa, 2009).

(Luque de Castro, 1998), citado por (Canosa, 2009) asegura que dentro de sus limitaciones, se encuentra el tiempo necesario para la extracción y los volúmenes de disolventes, en general muy elevados frente a otras técnicas, lo que implica la necesidad de concentrar los extractos orgánicos obtenidos.



Extracción con disolventes por reflujo



El reflujo es una técnica experimental de laboratorio para el calentamiento de reacciones que transcurren a temperatura superior al ambiente y en las que conviene mantener un volumen de reacción constante. Reflujo. (s.f.). En Wikipedia. Recuperado el 22 de agosto de 2017 de <https://es.wikipedia.org/wiki/Reflujo>

La palabra reflujo significa <retorno, vuelta atrás>. Un montaje para reflujo permite realizar procesos a temperaturas superiores al ambiente (reacciones, recristalizaciones, etc.), evitando la pérdida de disolvente y que éste salga a la atmósfera. Es frecuente que las reacciones que transcurren a temperatura superior al ambiente se lleven a cabo a reflujo, es decir, a la temperatura de ebullición del disolvente elegido. Por tanto, eligiendo el disolvente adecuado, se puede controlar la temperatura a la que se lleva a cabo la reacción (U.C.M., 2016).

Las reacciones se llevan a cabo generalmente en disolución. Aquellas reacciones que son demasiado lentas, o no progresan, a temperatura ambiente, requieren calefacción, mientras que las que son demasiado rápidas o poco selectivas, se realizan a baja temperatura (U.C.M., 2016).

Para llevar a cabo una reacción se emplea como reactor un matraz de fondo redondo, de una o varias bocas. El matraz debe tener el tamaño adecuado al volumen final de la reacción una vez añadidos los reactivos y el disolvente, sabiendo que un matraz no debe llenarse más de la mitad de su capacidad (U.C.M., 2016).



Extracción por maceración



Según (Chua et al., 2008), citados por (Peredo et al., 2009), otro tipo de extracción por disolventes, mayoritariamente usada a nivel de laboratorio, es la maceración o extracción alcohólica, en la cual la materia orgánica reposa en soluciones de alcohol por periodos de tiempo definidos. Los aceites esenciales son recuperados evaporando el alcohol, generalmente en rotavapores.

(Peredo et al., 2009), citando a (Khajeh et al., 2004), (Danjanovic et al., 2005), (Khajeh et al., 2005), (Vági et al., 2005), (Guan et al., 2007), asegura que la extracción con disolventes tiene importantes desventajas. Además que requiere de periodos de tiempo relativamente largos, los aceites esenciales obtenidos contienen trazas de los disolventes utilizados, limitando su uso en la industria de los alimentos, la industria cosmética o farmacéutica.

De acuerdo con (Fenaroli, 1975), citado por (López, 2008), la maceración es un proceso de extracción sólido-líquido, donde la materia prima posee serie de compuestos solubles en el líquido de extracción que son los que se pretende extraer. El proceso de maceración genera dos productos que pueden ser empleados dependiendo de las necesidades de uso, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia empleada, así como del líquido de extracción. Existen dos métodos de maceración de acuerdo con la temperatura: caliente y frío.



Maceración en frío y caliente



Para (Fenaroli's, 1975) en (López, 2008), la maceración en frío consiste en sumergir el producto a macerar en un recipiente con la cantidad suficiente de solvente para cubrir totalmente lo que se desea macerar. Esto se lleva a cabo por un lapso largo, dependiendo de la materia prima que se vaya a macerar. Las ventajas de la maceración en frío consisten en la utilización de equipos simples que requieren mínimas cantidades de energía y en la capacidad de extraer la mayoría de las propiedades de lo que se macera, prácticamente en su totalidad sin alterarla por efectos de temperatura. Sin embargo, se necesitan periodos mucho más extensos para lograr una extracción adecuada.

En la maceración en calor, el proceso consiste en el contacto entre las fases, el producto a macerar y el solvente; con la diferencia de la variación en la temperatura. El tiempo que se desea macerar varía mucho de la maceración en frío, ya que al utilizar calor se acelera el proceso. La desventaja de la maceración en calor es que no logra extraer totalmente pura la esencia del producto, ya que regularmente destruye algunas propiedades, es decir, muchas veces se trata de compuestos termolábiles que se ven afectados por la temperatura, además que requiere de equipos más sofisticados que permitan el control de temperatura, sin mencionar el consumo energético que el proceso implica. No obstante, los periodos de extracción se reducen favorablemente. La velocidad y eficiencia de la extracción es afectada por diversos factores, principalmente por aquellos que tienen relación directa con la solubilidad de los componentes que se desean extraer. (López, 2008).



Método de enflorado



La extracción con grasa en frío, *enfleurage* es un método antiguo de obtención de aceites esenciales que ha sido muy empleado sobre todo en la región de Grasse, al sur de Francia. Se basa en el hecho de que las grasas absorben sustancias aromáticas con facilidad. Este procedimiento se utiliza para flores cuyo contenido en aceite esencial es tan bajo que se queda en el agua de destilación, o bien que tienen un aceite esencial sensible al calor y también para otras como el nardo o el jazmín que siguen produciendo aceite esencial después de la recolección (Ortuño, 2006).

De acuerdo con (Bandoni et al., 2002) citado por (Perdomo y Palomares, 2015), en esta metodología, la esencia se solubiliza en la grasa que actúa como vehículo extractor. Se obtiene inicialmente una mezcla (concreto) de aceite esencial y grasa, la cual se separa posteriormente por otros medios físico-químicos. En general, se recurre al agregado de alcohol caliente a la mezcla y su posterior enfriamiento para separar la grasa (insoluble) y el extracto aromático (absoluto). Esta técnica se emplea para la obtención de esencias florales (rosa, jazmín, azahar, etc.), pero su bajo rendimiento y la difícil separación del aceite extractor la hacen costosa.

En el *enfleurage* se utilizan grasas completamente purificadas, las cuales se difunden en cubetas especiales, preferentemente de vidrio, donde los capullos de las flores son esparcidos sobre la grasa. Se deja en reposo un cierto periodo (25 a 30 horas), luego los capullos son retirados y reemplazados por otros, hasta que la grasa quede saturada con el aceite (Chiliqinga, 2006).



Extracción por fluidos supercríticos

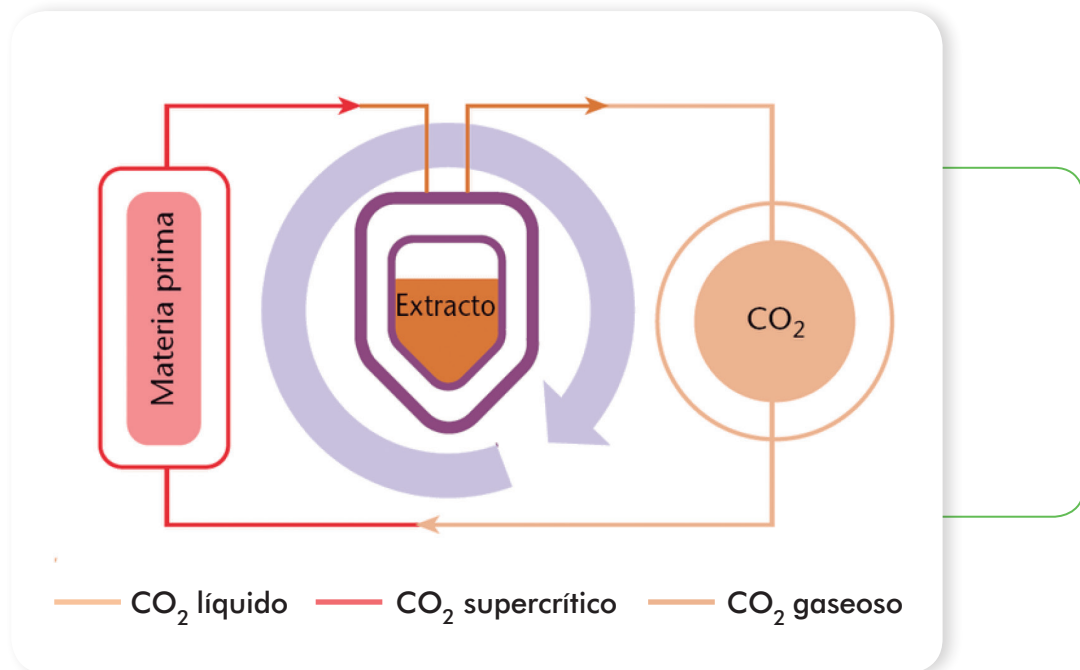


Un fluido supercrítico es cualquier sustancia a una temperatura y presión por encima de su punto crítico termodinámico. Tiene la propiedad de difundirse a través de los sólidos como un gas, y de disolver los materiales como un líquido. Adicionalmente, puede cambiar rápidamente la densidad con pequeños cambios en la temperatura o presión. Estas propiedades lo hacen conveniente como un sustituto de los solventes orgánicos en los procesos de extracción (Velasco et al., 2007).

(Peredo et al., 2009) citando a (Del Valle y Aguilera, 1999), afirma que la extracción por fluidos supercríticos es una operación unitaria que explota el poder disolvente de fluidos supercríticos en condiciones encima de su temperatura y presión críticas. Es posible obtener extractos libres de disolventes orgánicos convencionales. Estas ventajas son debidas a la alta volatilidad de los fluidos supercríticos (gases en condiciones ambientales normales) y a las propiedades de transporte mejoradas (alta difusividad y baja viscosidad). Usando dióxido de carbono, en particular, el tratamiento es a temperatura moderada y es posible lograr una alta selectividad de micro-componentes valiosos en productos naturales. La selectividad del CO₂ también es apropiada para la extracción de aceites esenciales, pigmentos, carotenoides antioxidantes, antimicrobianos y sustancias relacionadas, que son usadas como ingredientes para alimentos, medicinas y productos de perfumería, obtenidas de especias, hierbas y otros materiales biológicos.



Etapas del proceso de extracción supercrítica



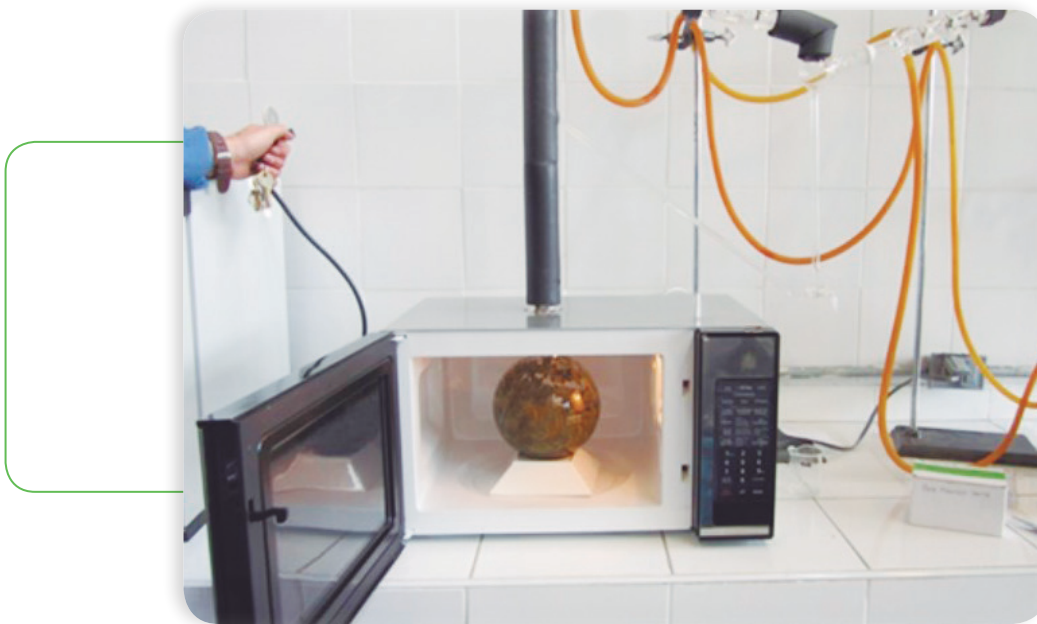
(Brunner, 2005), (Hurtado, 2002), (Rosa y Meireles, 2005), citados por (Velasco et al., 2007) aseguran que el CO₂ es el fluido supercrítico más utilizado, debido a que es no tóxico, no inflamable, no corrosivo, incoloro, no es costoso, se elimina fácilmente, no deja residuos, sus condiciones críticas son relativamente fáciles de alcanzar y se consigue con diferentes grados de pureza, se puede trabajar a baja temperatura y por tanto, se pueden separar compuestos termolábiles, se puede obtener a partir de procesos de fermentación alcohólica y ayuda a prevenir la degradación térmica de ciertos componentes químicos del alimento cuando son extraídos.

Así mismo (Tilly et al., 1990) citados por (Velasco et al., 2005), aseguran que la extracción con FSC, específicamente con CO₂, resulta una alternativa interesante para la extracción y fraccionamiento de aceites vegetales, porque no posee los inconvenientes de los disolventes orgánicos tradicionales. Como se mencionó anteriormente sobre algunas ventajas que ofrece el uso del CO₂ supercrítico, al ser no tóxico, ni dejar residuo en sus productos, así como su capacidad selectiva para extraer ciertas sustancias al realizar pequeños cambios de presión y temperatura. Adicionalmente, existen estudios que demuestran que el uso de CO₂ supercrítico conlleva a disminuir el consumo de energía con respecto a procesos de separación convencionales como destilación y lixiviación, entre otros.

“Sin embargo la ventaja principal de utilizar CO₂ supercrítico está en la calidad del aceite obtenido por este medio, en comparación con los aceites extraídos con solventes orgánicos tradicionales” (Mangold, 1983), citado por (Velasco et al., 2005).



Extracción asistida por microondas (MAE)



Equipo de laboratorio para extracción por Hidrodestilación asistida por microondas. Fundación Universitaria Agraria de Colombia - UNIAGRARIA.

“A finales de la década de los 80 se utilizó por primera vez la energía de microondas para la extracción de compuestos orgánicos, empleando un horno de microondas doméstico” (Ganzler et al., 1986), citados por (Barrera 2015). Desde entonces se ha incrementado significativamente el uso de microondas para la extracción de compuestos bioactivos a partir de material vegetal”; en (Mandal et al., 2007) citado por (Barrera, 2015).

La metodología, consiste en calentar el agua contenida en el material vegetal, que a su vez está inmerso en un disolvente transparente, a las microondas como puede ser el Cl_4C , el hexano o el tolueno. Al aumentar la temperatura del medio, se rompen las estructuras celulares que contienen a la esencia por efecto de su presión de vapor. La esencia es así liberada y disuelta en el disolvente presente en el medio (Barrera, 2015).

“La EAM consiste básicamente en poner en contacto una matriz que contiene un compuesto de interés con un solvente adecuado, el cual será calentado por la energía de las microondas” esto según (Paré et al., 2001), citados por (Barrera, 2015). “La extracción del analito de interés desde la muestra hasta el extractante va a depender de la temperatura y de la naturaleza del solvente” (Barrera, 2015).

Hay que resaltar que, contrariamente a lo que sucede en un calentamiento convencional, las microondas tienen la capacidad de interactuar con las moléculas de solvente y no con los recipientes contenedores (generalmente de vidrio). Así, el calentamiento es directo y es posible alcanzar con rapidez el punto de ebullición, disminuyendo el tiempo de extracción. En (Bandoni, 2000), citado por (Albarracín y Gallo, 2003).



Extracción asistida por ultrasonido



Equipo de ultrasonido - Laboratorio de Ingredientes naturales. Fundación Universitaria Agraria de Colombia. - UNIAGRARIA.

Según (Meireles, 2009), citado por (Fuentes y Aranda, 2013). "El ultrasonido es una técnica ampliamente usada en procesos químicos como en tratamiento de aguas, industria de colorantes, alimentos e industria farmacéutica para extraer compuestos bioactivos tales como aceites esenciales, flavonoides, alcaloides, polisacáridos, ésteres, etc.". El equipo de ultrasonido aplica ondas con frecuencia de 20 kHz, mediante ellas se logra irradiaciones ultrasónicas (en solventes como agua, pero en caso del extracto sea hidrofóbico se usan solventes orgánicos), los cuales manifiestan efectos fisicoquímicos, a través del fenómeno llamado cavitación, donde se forman burbujas; debido al crecimiento del núcleo de la biomasa (por ejemplo cuando se requiere extraer aceite de la microalga) y a su colapso, generando una variación de presión, permitiendo una mayor transferencia de masa y mejora de la extracción (Fuentes y Aranda, 2013).

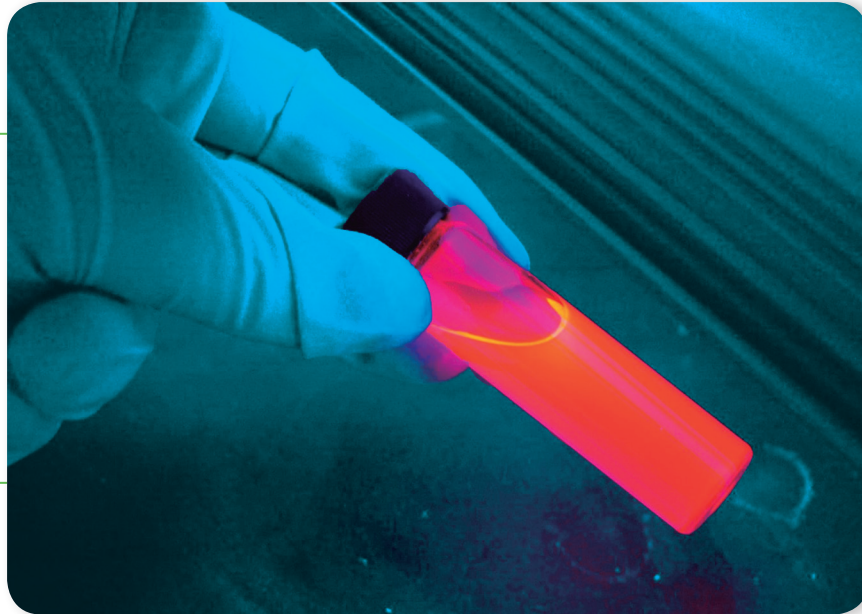
Según (Gao y Liu, 2005), citado por (Azuola y Vargas, 2007), la extracción asistida por ultrasonido, utilizando como su nombre lo indica, sonidos de alta frecuencia, con el fin de desprender el compuesto buscado del material vegetal. Las partículas sólidas y líquidas vibran y se aceleran ante la acción ultrasónica, como resultado el soluto pasa rápidamente de la fase sólida al solvente.

De acuerdo con (Rostagno et al., 2003), citado por (Azuola y Vargas, 2007), la extracción asistida por ultrasonido es la técnica más económica y además tiene los requerimientos más bajos, entre las últimas técnicas de extracción desarrolladas.

Además según (Vinatoru, 2001), citado por (Azuola y Vargas, 2007), el ultrasonido facilita la rehidratación del tejido.



Análisis fitoquímico preliminar



Según (Albornoz, 1980), citado por (Miño, 2007), “la fitoquímica estudia las propiedades y estructuras químicas de los productos naturales de las plantas, a través de lo que se conoce como marcha fitoquímica, se determina la existencia de un tipo de compuesto químico”.

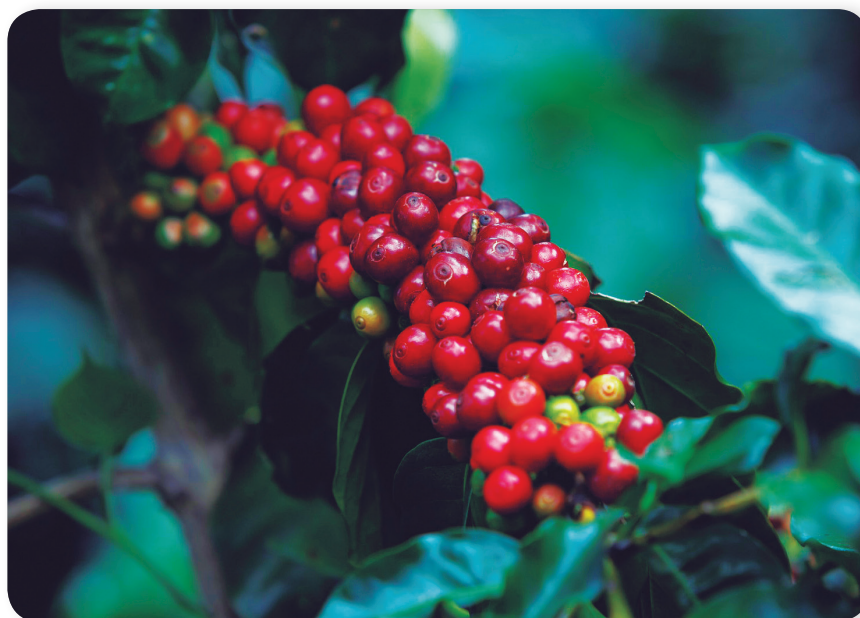
Para determinar la composición química de las plantas medicinales y conocer sus constituyentes biológicamente activos pueden seguirse metodologías que van desde un análisis fitoquímico preliminar, hasta estudios químicos sistemáticos bioquímicos. Lo ideal es iniciar con estudios fitoquímicos preliminares que permitan hacer una discriminación de las plantas a estudiar en términos de su composición química, con el fin de seleccionar únicamente aquellas más interesantes para posteriores estudios sistemáticos. El objetivo de un estudio fitoquímico preliminar es determinar la presencia o ausencia de los principales grupos de metabolitos en una especie vegetal, a saber: alcaloides, antraquinonas y naftoquinonas, esteroides y triterpenos, flavonoides, taninos, saponinas, cumarinas, lactonas terpénicas y cardiotónicos. Dado que cada uno de estos grupos de compuestos está relacionado con actividades biológicas específicas, partiendo de los resultados obtenidos en el estudio fitoquímico preliminar es posible orientar investigaciones posteriores para determinar la actividad biológica de las especies en cuestión y los principios activos involucrados (Carvajal et al., 2009).

Es relevante resaltar que en concordancia con (Sanabria et al., 1997), “los análisis fitoquímicos preliminares, por muchos años también han mostrado ser un método adecuado para poner de manifiesto metabolitos secundarios relacionados con actividades biológicas interesantes”.

“Dentro de los metabolitos secundarios a analizarse se encuentran: los alcaloides, esteroides. Flavonoides, taninos, quinonas, saponinas, cumarinas, antraquinonas heterósidos cardiotónicos, sesquiterpenolactonas” (Miño, 2007).



Alcaloides



Siguiendo la definición dada por (Miño, 2007), los alcaloides son compuestos orgánicos que contienen uno o más átomos de nitrógeno, generalmente en anillo heterocíclico y con actividad fisiológica específica. Estas sustancias son de origen biológico y sobre todo de origen vegetal. Por lo general, presentan un nitrógeno heterocíclico, como amina primaria ($R-NH_2$), secundaria ($R'-NH$) o terciaria ($R''-N$). Son particularmente activos en el metabolismo vegetal. Se los considera como depósitos para síntesis proteicas y estimulantes o reguladores de actividades como el crecimiento, metabolismo y reproducción. Además, (Albornoz, 1980), citado por (Miño, 2007) aclara que actúan como núcleos de coenzimas u hormonas. Funcionan como fuentes desintoxicantes en procesos de metilación.

Los alcaloides base son solubles en los solventes orgánicos (éter, cloroformo y prácticamente insolubles en agua; sus sales por el contrario, se disuelven bien en agua y son generalmente insolubles en los solventes orgánicos (Nina y Romero, 2009). Así mismo, (Villafan s.f), citada por (Nina y Romero, 2009) nos enseña que “su extracción se puede hacer mediante un tratamiento con un solvente orgánico, después de haber puesto en libertad la base y sus combinaciones por un álcali, o bien haciendo actuar un ácido”.



Alcaloides e identificación



La mayoría de los alcaloides, con excepción de los alcaloides de amonio cuaternario y N-óxidos de amina, son solubles en solventes orgánicos poco polares, como cloroformo y mezclas de éste, pero pueden formar sales solubles en agua en presencia de ácidos minerales diluidos, como el ácido clorhídrico al 5 % en agua (López et al., 2009).

De acuerdo con (Codina et al., 1993), citado por (Bergoñon, 1994), "el método seguido para la extracción y fraccionamiento de los alcaloides se basa en el establecido previamente para este tipo de compuestos". Básicamente consta de una primera parte, que es la despigmentación o eliminación de los pigmentos más lipófilos del extracto metanólico y acidificado de la planta (carotenos y clorofilas), utilizando para ello un disolvente de polaridad similar, como el butanol, el éter etílico o el éter de petróleo. La segunda parte del proceso es el fraccionamiento propiamente dicho, en el cual se requiere trabajar a diferentes pH, a fin de tener los alcaloides, que por definición son sustancias básicas, en forma neutra o salina, y poder recuperarlos con el disolvente más adecuado a su polaridad. El objetivo último de obtener diversos extractos enriquecidos en un tipo determinado de alcaloides es evitar que puedan recuperarse otras sustancias orgánicas que no sean de interés. Esta segunda parte puede resultar simple o bastante complicada, en función de la cantidad de material de partida, siendo necesario en algunos casos obtener hasta cuatro extractos.

Un extracto salino puede tener alcaloides fenólicos y similares. En (Piozzi et al., 1968) citado por (Bergoñon, 1994), un extracto clorofórmico salino, que está constituido por alcaloides, cuyas sales son solubles en cloroformo pueden ser lactónicos o carentes de funciones polares. En (Lyle et al., 1960) citado por (Bergoñon, 1994), un extracto clorofórmico neutro y un extracto neutro cloroformo-etanólico está formado por alcaloides fenólicos neutros poco solubles en cloroformo o éter etílico.



Esteroles e identificación



De acuerdo con (Albornoz, 1980), citado por (Miño, 2007), los esteroides son alcoholes sólidos con 20 a 27 átomos de carbono, en cuya cadena lateral pueden insertarse radical metilo o radical es etilo. Los esteroides están caracterizados por la presencia de una función alcohólica en la posición 3. Tienen una cadena carbonada alifática insaturada y ramificada. Los esteroides vegetales están presentes de forma natural en pequeñas cantidades, en muchas frutas, verduras, semillas, cereales, legumbres, aceites vegetales y otras fuentes similares. La importancia de los esteroides en fitoterapia radica en el potencial en disminuir el colesterol, ya que reducen la absorción intestinal del colesterol.

Para la extracción de esteroides, se recomienda, tomar una cantidad de EET correspondiente a 15 g de planta y colocar en un embudo de separación de 500 ml, luego se adiciona una cantidad igual de éter de petróleo, separando el extracto etéreo (capa superior denominada C). (Miño, 2007).

A este extracto, denominado C, se le deben realizar las siguientes pruebas en orden de identificar esteroides (Miño, 2007).

Primero la prueba de Lieberman – Buchard, donde se toma 1 ml del extracto C, se adiciona 0,5 ml de anhídrido acético y se le suma una gota de ácido sulfúrico. El resultado es positivo, si se observa claramente en el punto de contacto un anillo de color azul (Miño, 2007).

La segunda prueba es la de Zack, en la cual se utiliza 1ml del extracto C, se le adicionan 2 ml de ácido acético y dos gotas de cloruro férrico (FeCl_3) al 20 %. Se considera un resultado positivo, si automáticamente o luego de haber llevado a baño maría, pasados unos segundos, aparece una coloración verde (Miño, 2007).



Taninos e identificación



Los taninos son compuestos químicos de carácter fenólico de alto peso molecular, no cristalizables, que forman con el agua soluciones coloidales de reacción ácida y de sabor muy astringente. Aunque su constitución química sea diferente entre un tipo de tanino y otro existen propiedades semejantes, por la presencia de grupos fenólicos en todos ellos. Se distinguen clásicamente dos grupos de taninos que difieren por su estructura y por su origen biogénico:

- a. **Taninos hidrolizables:** la hidrólisis se puede realizar por medio de ácido diluido y caliente o por la acción de una diastasa especial, producida por el *Aspergillus Niger* llamada tanasa. Según los productos que se obtengan en la hidrólisis, este grupo de taninos se divide en 2 subgrupos:
 - Aquellos que producen azúcares (generalmente glucosa) y ácidos fenólicos. Pueden ser heterósidos o ésteres, de la glucosa con los ácidos fenólicos o con sus dépsidos (Delporte, 2010).
 - Taninos hidrolizables en ácidos fenólicos o dépsi-taninos: Los dépsi-taninos se diferencian de los taninos glicosídicos en que por desdoblamiento hidrolítico no producen azúcares, sino únicamente ácidos fenólicos o sus dépsidos. Este tipo de taninos cumplen en general con las propiedades de estos compuestos: son reductores, se colorean de verde con FeCl_3 , precipitan con acetato de Pb o con los alcaloides. En cambio, la propiedad de coagular la gelatina o de curtir la piel sólo aparece cuando la molécula del dépsido es tan grande que produce soluciones coloidales (Delporte, 2010).
- b. **Tanino no hidrolizables, condensado o catéquico:** Se trata de principios curtientes que no se pueden hidrolizar porque contienen un esqueleto carbonado continuo.



Fitoquímica de taninos



Fundidos con álcalis generan pirocatequinas. Con ácidos a ebullición no se hidrolizan, sino que producen un precipitado rojo llamado flobáfeno o tanino rojo insoluble (Delporte, 2010).

Se encuentran en la madera de encina y roble, en el quebracho colorado, en la corteza de quina, hojas de té, etc. Sintéticamente se obtienen por reducción del cloruro de cianidina con hidrógeno nascente, obteniéndose la catequina que luego se condensa para dar el tanino. La catequina no tiene propiedades curtientes y no precipita la solución de gelatina, pero haciéndole hervir largo tiempo en solución acuosa, van apareciendo las propiedades tanantes y las de coagular la gelatina. Se produce la condensación gradual de la catequina formando una macromolécula de carácter coloidal que es la poseedora de las propiedades curtientes. Cuando la condensación llega al máximo, se producen los flobáfenos o taninos rojos insolubles (Delporte, 2010).

“Reconocimiento de taninos: el ensayo con cloruro férrico permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos o taninos. Si el extracto de la planta se realiza con etanol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos; a una alícuota del extracto etanólico se le adicionan 3 gotas de una solución de cloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica. Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos; a una alícuota del mismo se le añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de la solución reactiva.

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. (Delporte, 2010).



Flavonoides e identificación



Los flavonoides pertenecen a un grupo de compuestos naturales arreglados bajo un sistema C₆-C₃-C₆, en el cual dos anillos aromáticos llamados A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no formar un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C. Se conoce como 10 clases de flavonoides, los cuales pueden encontrarse como aglicona o bajo la forma de glicósidos con una o tres unidades de azúcar, generalmente en los carbonos 3 y 7, siendo los azúcares más comunes, la glucosa, galactosa, ramnosa, xilosa y arabinosa (Lock et al., 2006).

“Se hallan presentes en todas las partes de la planta, algunas clases se encuentran más ampliamente distribuidas que otras, siendo más comunes las flavonas y flavonoles y más restringidas en su ocurrencia, las isoflavonas, las chalconas y auronas” (Lock et al., 2006).

“Estos compuestos poseen también importancia farmacológica, resultado de algunas propiedades importantes atribuidas a algunos representantes de las diferentes clases, como antiinflamatorio, antialérgico, antiulcerogénico, antiviral, anticarcinogénico; asimismo, son utilizados para el tratamiento de la fragilidad capilar, de la diabetes y de las afecciones cardiacas, entre otras” (Lock et al., 2006).

Como características generales de estos compuestos debemos señalar su solubilidad en agua y etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro, debido a la presencia de sistemas aromáticos conjugados. Una clasificación preliminar del tipo de flavonoide en un extracto de planta, puede hacerse basado inicialmente en un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color; esto, seguido por un examen cromatográfico directamente del extracto o del extracto hidrolizado. (Lock et al., 2006).



Antraquinonas e identificación



Las antraquinonas constituyen el grupo más numeroso de las quinonas naturales y son la base y fuente de una importante cantidad de colorantes. Son compuestos aromáticos polihidroxilados más o menos metilados (Gibaja, 1998).

Las antraquinonas son una clase de metabolitos secundarios vegetales con una funcionalidad p-quinóide en un núcleo antracénico. (Martínez, 2012).

Las antraquinonas naturales se encuentran libres y al estado de combinaciones glicosídicas. Pueden hallarse en la corteza y la raíz de los diversos géneros y especies de las familias: Rubiáceas, Rhamnáceas, Polygonáceas, Leguminosas, Escrofulariáceas, Liliáceas y Verbenáceas; en los líquenes, hongos y en los insectos tintóreos de la familia de los Cóccidos (Gibaja, 1998).

Los procedimientos para el aislamiento de estas sustancias dependen del tipo de núcleo de interés. Para aislar efectivamente las agliconas, la muestra vegetal se extrae con solventes poco polares como éter etílico o benceno. Cuando se desee extraer las formas reducidas, debe tenerse precaución especial, ya que la sola presencia del oxígeno del aire produce la oxidación, en este sentido es aconsejable trabajar en atmósferas inertes como en una atmósfera de nitrógeno. El proceso de oxidación es también bastante rápido en soluciones alcalinas, y en estas condiciones se forman diantronas, poliantronas y por supuesto antraquinonas. Luego de la extracción, los glicósidos deben concentrarse bajo presión reducida para obtener los cristales crudos. Estos cristales pueden purificarse por recristalizaciones sucesivas en mezclas acetona-agua (Martínez, 2012).

Según (Frei, 1980), citado por (Martínez, 2012), "Las antraquinonas se pueden detectar sobre las placas cromatográficas por sus colores visibles y bajo luz ultravioleta. Al rociar las placas con KOH al 10 % metanólico, los colores amarillos y pardos originales cambian a rojos, violetas, verdes o púrpuras".



Fitoquímica de antraquinonas



En concordancia con (Martínez, 2012), hay por lo menos cuatro ensayos de reconocimiento. El de Bornträger, ensayo en el cual, una porción del material vegetal se pone en ebullición con una solución de KOH acuoso diluido, durante varios minutos. Este tratamiento no solo hidroliza los glicósidos antracénicos, sino que también oxida las antronas y antranoles hasta antraquinonas. La solución alcalina se deja enfriar, se acidifica y se extrae con benceno. Cuando la fase bencénica se separa y se pone en contacto con una solución acuosa diluida de un álcali, la fase bencénica pierde su color amarillo y la fase acuosa se torna de color rojo si la muestra contiene antraquinonas. Si la muestra contiene antraquinonas parcialmente reducidas, la solución original no se torna roja inmediatamente después de hacerla alcalina, pero se torna de color amarillo con una fluorescencia verdosa, y poco a poco se va tornando roja, a medida que ocurra la oxidación. En el ensayo con acetato de magnesio alcohólico, se tratan las soluciones que contienen antraquinonas puras con una solución de acetato de magnesio en alcohol, donde se producen coloraciones características, dependiendo del patrón de hidroxilación de la sustancia. Las sustancias m-hidroxiladas producen color amarillo naranja, las p-hidroxiladas, color rojo y las o-hidroxiladas producen coloración violeta. Mediante el ensayo de reducción moderada, las antraquinonas se reducen fácilmente en presencia de un metal y un ácido mineral, perdiendo su coloración original, pero al dejar expuesto al aire el producto de reducción, este se oxida por el oxígeno del aire y reaparece la coloración original. Y por último, el ensayo de reducción drástica, las antraquinonas pueden reducirse drásticamente hasta antraceno por destilación en seco con zinc en polvo. Este tratamiento convierte los compuestos tipo antrona o antraquinona en antraceno, el cual es destilado y se puede identificar por su punto de fusión (216 °C). Por su parte las 2-metil-antronas y 2-metil-antraquinonas forman 2-metil-antraceno (P.F. 245 °C), y pueden distinguirse fácilmente de las naftoquinonas, las cuales producen naftaleno (P.F. 80 °C). (Martínez, 2012).



Heterósidos cardiotónicos e identificación



Los glucósidos o heterósidos son compuestos que están formados por dos partes: una es un azúcar y la otra de no-azúcar o aglucona, aglicón o genina. Estas moléculas constituyen los principios activos de muchas plantas y su actividad farmacológica se debe fundamentalmente a la parte no glucídica (Cañete, 2010).

A este grupo pertenecen una serie de principios activos que actúan directamente sobre el músculo cardíaco y por tanto, ejercen su acción terapéutica en la insuficiencia cardíaca congestiva o en las alteraciones del ritmo cardíaco. Sin embargo, precisamente por la gravedad de esta patología y las características especiales de estos principios activos, cuyo margen terapéutico es sumamente estrecho, muchas de las drogas que los contienen, no se emplean en la actualidad directamente como productos fitoterapéuticos, aunque sus principios activos aislados siguen siendo indispensables en la terapéutica. Los heterósidos cardiotónicos también se denominan digitálicos, debido al nombre de la especie. (Cañete, 2010).

Su característica principal es que tienen acción específica sobre el corazón y algunos de ellos no han podido ser sustituidos por fármacos de síntesis. Las drogas con cardiotónicos son muy tóxicas (10 gr de hoja desecada, 40 gr de hoja fresca son mortales). Antiguamente, los estrofantos fueron utilizados como venenos para la caza o guerra. (Cañete, 2010).

Se utiliza la reacción de Liebermann-Burchard, para determinar esteroides que cumplan con lo siguiente: un sustituyente -OH en posición 3 y un doble enlace preexistente en el anillo A o en el B, o bien que puedan formar este doble enlace, por la deshidratación generada por el H₂SO₄ durante la reacción, conjugándose con el originado en C₃=C₄ o C₃=C₂. La aparición de un color verde que varía con el tiempo que va hasta azul petróleo, lo que indica una reacción positiva. Para el reconocimiento del grupo cardenólido, se utiliza la reacción de Kedde, la cual es positiva con color azulado, rosa y hasta violeta (Unpsjb, 2010).



Saponinas e identificación



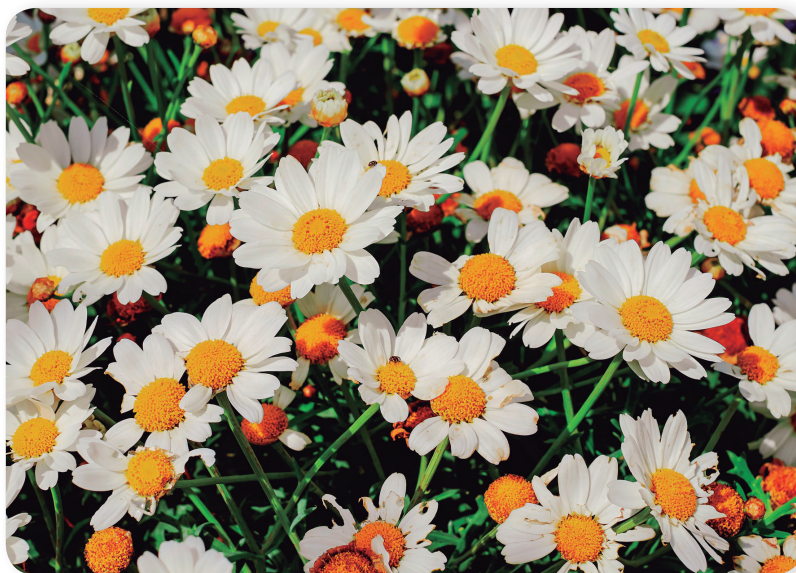
De acuerdo con (Guirado, 2005) y (Suhagia et al., 2011), citados por (Mena et al., 2015), las saponinas son glicósidos hidrosolubles, con propiedades tensoactivas y hemolíticas, ambas atribuidas a sus características estructurales de naturaleza anfifílica. Estos metabolitos también pueden ejercer una amplia actividad biológica y farmacológica, destacándose su efecto piscida, insecticida, anti-protozoos, anti-inflamatorio, leishmanicida, anti-trichomonas, anti-agregante plaquetario, broncolítico, hipo-colesterolémico, así como su actividad citotóxica frente a varias neoplasias. Según (Man et al., 2010) y (Ospina et al., 2013); citados por (Mena et al., 2015).

Se conocen más de 200 saponinas esteroidales, localizadas fundamentalmente en las Monocotiledóneas y otras tantas triterpénicas, aisladas principalmente de Dicotiledóneas. Ambos grupos de saponinas se han obtenido de diversos órganos vegetales. Además, se hallan presentes en organismos marinos. Las saponinas son sustancias polares y es posible extraerlas en caliente o en frío con agua o con alcoholes de bajo peso molecular. Los materiales lipídicos se separan de estos extractos con hexano, benceno y tolueno. Al concentrar la solución alcohólica se separan las saponinas y después se cristalizan en mezclas de alcohol-agua. Para obtener sapogeninas, las saponinas se pueden hidrolizar con enzimas naturales o con HCl o H₂SO₄ (este último se prefiere en el caso de sapogeninas insaturadas). Después se separan las sapogeninas con benceno, éter, cloroformo, acetona, dependiendo de los sustituyentes que posea. Estas se pueden acetilar para dar compuestos fácilmente cristalizables, permitiendo así su purificación y estudio. (Unpsjb, 2010).

De acuerdo con (Medinilla, 1993), citado por (Hernández y Hermosilla, 2013), al agitar una solución acuosa de una muestra que sea o contenga saponinas, en una probeta por 15 segundos, se forma una espuma estable como la obtenida al agitar una solución acuosa de un jabón. Esta es una prueba presuntiva de saponinas, ya que existen otras sustancias que también pueden formar espuma.



Sesquiterpenlactonas e identificación



Las sesquiterpenlactonas comúnmente se clasifican de acuerdo con el tipo de núcleo que posean con la terminación ólico que indica la existencia de un grupo funcional lactona (Martínez, 2001). De acuerdo con (Geissman, 1969), (Gros, 1985) e (Israel, 1977), citados por (Martínez, 2001), las sesquiterpenlactonas se originan a partir de farnesilpirofosfato como los demás sesquiterpenos naturales.

Las sesquiterpenlactonas son constituyentes característicos de plantas de la familia de las compuestas, aunque se han encontrado en otras pocas plantas de familias como magnoliáceas, umbelíferas, y lauráceas. (Martínez, 2001).

(Genovez, 1980), citado por (Villacorta, 2013), asegura que hasta 2011 se habían reportado unas 3 000 sesquiterpenlactonas naturales y las concentraciones de sesquiterpenlactonas pueden variar entre el 0.01 y el 8 % del peso seco, siendo las concentraciones mayores generalmente en las hojas, aunque están en toda la planta.

De acuerdo con (Scheriber, 1963), citado por (Lizcano y Vergara, 2008), "Presentan gran importancia por la variada acción biológica que han demostrado: acción citotóxica, antitumoral, analgésica, inhibidoras del crecimiento de bacterias, entre otras".

Las sesquiterpenlactonas tienen las propiedades de solubilidad características de la gran mayoría de terpenoides, y son por lo tanto solubles en solventes relativamente apolares como cloroformo, ciclorometano, benceno, éter etílico, etc.; siendo el cloroformo el más usado para su extracción (Martínez, 2001).

Rodríguez, citado por (Martínez, 2001), recomienda extraer el material vegetal seco con cloroformo. El extracto se redissuelve en etanol caliente y se añade solución acuosa de acetato de plomo al 4 %, con lo cual se precipitan sustancias más polares. El filtrado se concentra y se somete a cromatografía.



Cumarinas e identificación



Son benzo- α -pironas. Con el nombre de cumarinas se conoce a un grupo muy amplio de principios activos fenólicos que se encuentran en plantas medicinales y tienen en común una estructura química de 2H-1-benzopiran-2-ona, denominada cumarina. Sobre esta estructura se disponen sustituyentes de distinta naturaleza química, lo que da lugar a distintos tipos de cumarinas: sencillas y complejas. Como grupo, su interés farmacológico no es muy grande, sin embargo, debemos mencionar sus efectos sobre el sistema vascular tanto arterial como venoso y su utilidad en el tratamiento de algunas alteraciones de la piel como por ejemplo la psoriasis debido a sus propiedades fotosensibilizantes (Cañete, 2010).

“Las cumarinas se hallan ampliamente distribuidas en el reino vegetal, aunque son especialmente frecuentes en Fabaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Umbeliferae, Apocinaceae, Compositae, Orquidaceae, Rutaceae y Labiatae” (López, 2007).

Para llevar a cabo su detección, se tiene en cuenta el hecho de que son fluorescentes a la luz ultravioleta y para aumentar la intensidad, se tratan previamente con amoníaco. Un método simple para la detección de cumarinas en los vegetales consiste en introducir una pequeña cantidad de material humectado en agua, en un tubo de ensayo, el cual se cubre con un papel de filtro previamente humedecido con sosa diluida; se calienta el tubo a baño maría hirviendo durante varios minutos y se observa el papel de filtro a la luz ultravioleta, debiendo aparecer fluorescencia amarillo-verdosa. Sin embargo, este método es solo válido para la cumarina y compuestos volátiles relacionados. La mayoría de los métodos empleados para detectar derivados cumarínicos se basan en la cromatografía del extracto, pulverizando con reactivos como el ácido difenilbórico, éster β -aminoetílico, ácido sulfanílico diazotado y potasa o bien acetato de uranilo (López, 2007).



Glosario



Antiespasmódico: Componente que alivia las contracciones involuntarias de los músculos conocidas como los espasmos musculares.

Bálsamo: Es un preparado de plantas medicinales que puede ser líquido o cremoso, si se adiciona y mezcla con una pomada o ungüento, que se aplica directamente en heridas y demás afecciones de la piel.

Emplasto: Sustancia que se aplica de forma tópica con fines terapéuticos sobre alguna parte del cuerpo.

Esencia o Extracto: Solución concentrada de principios activos de plantas medicinales. Se obtiene a partir de la mezcla de plantas molidas o pulverizadas con soluciones químicas extractoras de principios activos (agua, alcohol, etc.) y posteriormente sometidas a evaporación.

Fármaco: Sustancia química empleada en el tratamiento o cura de una patología o proceso fisiológico no deseado.

Fitoquímica: Química de las plantas o estudio de las sustancias vegetales por medio de diferentes técnicas analíticas a saber: extracción, separación, purificación y caracterización química de las moléculas.

Flavonoides: Tipo de metabolito secundario presente en las plantas y de gran uso en la medicina por su acción en la disminución del riesgo de enfermedades cardíacas y sus propiedades antimicrobianas, anticancerígenas, etc.

Infusión: Preparación similar a la decocción. En este caso no se pone la planta a hervir junto con el agua. Aquí se espera que el agua hierva, se baja del fuego y se le adiciona la planta molida o machacada, se deja reposar 10 minutos y se filtra.

Metabolitos primarios: Compuestos químicos producidos por el metabolismo de los seres vivos, tal es el caso de los glúcidos y lípidos.

Metabolitos secundarios: Compuestos químicos de carácter terapéutico.

Planta medicinal: Especie vegetal con sustancias químicas o principios activos que tienen propiedades terapéuticas o pueden emplearse en la elaboración de fármacos.

Principios activos: Sustancias químicas que se extraen de organismos vivos y que tienen propiedades farmacológicas.

Terpenos: Compuestos orgánicos que hacen parte de los aceites esenciales de algunas plantas y flores.



Referencias



- Alarcón, J. y Instituto Colombiano de Agricultura (ICA) (2011). *Plantas aromáticas y medicinales enfermedades de importancia y sus usos terapéuticos*. Sanidad Vegetal. Bogotá, Colombia: Instituto Colombiano Agropecuario (ICA).
- Albarracín, G. y Gallo, S. (2003). *Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando Piper Aduncum (Cordoncillo) procedente de la zona cafetera*. Universidad Nacional de Colombia, Sede Manizales.
- Ávalos, A. y Pérez, E. (2009). *Reduca (Biología)*. Serie Fisiología Vegetal, 2, 119-145.
- Azcón, J. y Talón, M. (2000). *Citoquininas. Fundamentos de Fisiología Vegetal*. España: Editorial McGraw Hill S.A Interamericana de España. 343-360.
- Azcón, J. y Talón, M. (2000). *Fundamentos de Fisiología Vegetal*. Buenos Aires, Argentina: Editorial McGraw Hill S.A. Interamericana. 851.
- Azuola, R. y Vargas, P. (2007). *Extracción de sustancias asistida por ultrasonido (EUA)*. Revista Tecnología en Marcha, 20(4).
- Barrera, M. (2015). *Métodos alternativos para la extracción y purificación de productos naturales de interés para la industria farmacéutica*. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Barreto, J. (2009). *Evaluación preliminar de la actividad antiinflamatoria de las fracciones obtenidas de los extractos en petrol y en etanol de hojas y corteza de la planta bursera tomentosa (JACQ) Tr. & Pl.* Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.
- Bergoñón, S. (1994). *Aislamiento y caracterización química de alcaloides del tipo Amaryllidaceae. Producción de galantamina por cultivos "in vitro" de "Narcissus confusus"*. Universitat de Barcelona.
- Bermúdez, M. (2009). *Uso industrial de plantas Aromáticas medicinales*. Unpublished ingeniería, Madrid.
- Bilbao, M. (1997). *Análisis Fitoquímico Preliminar. Química de los productos naturales*. Universidad del Quindío, Armenia.
- Canosa, M. (2009). *Desarrollo de metodología analítica para determinación de Triclosán y Parabenes. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales*. Universidad Santiago de Compostela, España.
- Cañete, M. (2010). *Uso Industrial de Plantas Aromáticas y Medicinales*. Recuperado de: <http://ocw.upm.es/ingenieria-agroforestal/uso-industrial-de-plantas-aromaticas-y-medicinales>.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N., y Rueda Niño, D. (2009). *Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (Strychnos schultesiana Krukoff)*. Colombia Forestal, 12(1), 161-170.
- Castro, D., Díaz, J., Serna, R., Martínez, M., Urrea, P. y Durango, K. (2013). *Cultivo y producción de plantas aromáticas y medicinales*. Rionegro, Colombia: Universidad Católica de Oriente.
- Chiliquinga, I. (2006). *Extracción del aceite esencial de las semillas de (Elettaria cardamomum) para uso en la industria alimenticia*. Ambato, Ecuador.



- Croteau, R., Kutchan, T. y Lewis, N. (2000). *Natural products (secondary metabolites)*. *Biochemistry and molecular biology of plants*, 24, 1250-1319.
- Delporte, V. (2010). *Farmacognosia, trabajos prácticos*. Universidad de Chile, Santiago.
- Flores, V., Castañeda, O., Montiel, T., y Hernández, G. (2014). *Análisis fitoquímico preliminar del extracto hexánico de hojas de Hemiphyllacus novogalicianus, una especie endémica de México*. *Investigación y Ciencia*, 22(63).
- Fuentes, M. y Aranda, S. (2013). *Metodología para extracción de aceite de la microalga Nannochloropsis oculata usando ultrasonido*. *Revista del Instituto de Investigación de la Facultad de Ingeniería Geológica, Minera, Metalúrgica y Geográfica*, 16(32).
- Gibaja, S. (1998). *Pigmentos naturales quinónicos*. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos-Fondo editorial UNMSM.
- Hernández, G. y Hermosilla, C. (2014). *Efecto de la concentración de saponinas en la actividad hemolítica de extractos de ocho plantas de uso medicinal en Guatemala*. Universidad de San Carlos, Guatemala.
- Lizcano, A. y Vergara J. (2008). *Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y BS Pontificia Universidad Javeriana*, Bogotá, Colombia.
- López, M. (2004). *Los aceites esenciales: Aplicaciones farmacológicas, cosméticas y alimentarias*. *Offarm: Farmacia y Sociedad*, 23(7), 88-91.
- López, E. (2008). *Producción de Bebida Alcohólica de Alta Calidad*. Universidad de las Américas, Puebla Cholula, México.
- López, E. (2007). *Estudio fitoquímico y aproximación genética en especies de la sección Plinthine del género Arenaria (Caryophyllaceae)*. Universidad de Granada, España.
- Lock, O., Cabello, I., y Doroteo, V. (2006). *Análisis de Flavonoides en Plantas. Analysis Of Flavonoids In Plants*. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.
- Martínez, A. (1996). *Aceites esenciales*. *J. Nat. Prod*, 59(1), 77-79.
- Martínez, A. (2001). *Sesquiterpénlactonas*. Universidad de Antioquia, Medellín.
- Martínez, A. (2012). *Quinonas y compuestos relacionados*. Universidad de Antioquia, Medellín.
- Mena, L., Tamargo, B., Salas Olivet, E., Plaza, L., Blanco, Y., Otero, A., y Sierra, G. (2015). *Determinación de saponinas y otros metabolitos secundarios en extractos acuosos de Sapindus saponaria L. (jaboncillo)*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 20(1), 106-116.
- Miño, G. (2007). *Investigación fitoquímica e identificación de principios activos en seis especies del género Baccharis*. Universidad de las Fuerzas Armadas (ESPE), Quito, Ecuador.
- Nina, C. y Romero, G. (2009). *Extracción e identificación de alcaloides y otros compuestos químicos de la planta huperzia saururus (cola de quirquincho)*. Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Sucre, Bolivia.
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. España: Ediciones Aiyana.
- Pedrozo, J. (2004). *Productos Naturales Vegetales: Generalidades Químicas, Papel Biológico, Importancia Industrial y Métodos de uso común en fitoquímica en cuadernillos No 1 y No 3*. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá.



- Perdomo, A. y Palomarez, B. (2015). *Extracción y evaluación de rendimientos de los aceites esenciales del árbol Aniba perutilis Hemsley (Comino) mediante el método de arrastre con vapor*. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (CEAD), Florencia, Colombia.
- Paredo, H., Palou, E. y López, A. (2009). *Aceites esenciales: métodos de extracción. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, Universidad de las Américas Puebla, México.
- Pérez, N. y Jiménez, E. (2011). *Producción de metabolitos secundarios de plantas mediante el cultivo in vitro. Biotecnología Vegetal*, 11(4).
- Porras, A., López, A. (2009). *Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos*, 3(1), 121-124.
- Rojas, O. (2009). *Hidrodestilación y caracterización del aceite esencial de plantas medicinales de Santa María Huitepec, Oaxaca*. Instituto Politécnico Nacional, México.
- Salisbury, F. y Ross, C. (1992). *Fisiología Vegetal*. México. D. F, México: Grupo Editorial Iberoamericano.
- Sanabria, A., López, S. y Gualdrón, R. (1997). *Estudio fitoquímico preliminar y letalidad sobre Artemia salina de plantas colombianas. Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 26(1).
- Sanmartín, L. (2008). *Nuevas aportaciones al metabolismo secundario del tomate. Identificación y estudio de moléculas implicadas en la respuesta a la infección con pseudomonas syringae pv. Tomato*. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Sepúlveda, G., Porta, H., y Rocha, M. (2003). *La participación de los metabolitos secundarios en la defensa de las plantas. Revista Mexicana de Fitopatología*, 21(3).
- Stashenko, E. (2009). *Aceites esenciales. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Santander*.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2002). *Plant Physiology. Sunderland, United States: Editorial Sinauer Associates, Inc., Publishers*.
- Taiz, L. y Zeiger, E. (2006). *Secondary Metabolites and Plant Defense. United States: Sinauer Associates*.
- Valencia, E. (2013). *Validación y actualización del uso de plantas medicinales presentes en la selva valdiviana. Universidad Austral de Chile*.
- Velasco, R., Villada, H. y Carrera, J. (2007). *Aplicaciones de los fluidos supercríticos en la agroindustria. Información tecnológica*, 18(1), 53-66.
- Villacorta, J. (2013). *Cuantificación de sesquiterpenlactonas provenientes de las hojas de Calea urticifolia (Juanislama) recolectadas en el periodo de enero a junio de 2012*. Universidad de El Salvador, San Salvador.
- Viteri, M. (2012). *Estimación de las emisiones de compuestos orgánicos volátiles de la vegetación del Ecuador durante el año 2010*, Quito, Ecuador.
- Universidad Complutense de Madrid. (2016). *Prácticas de Química Orgánica I*. Recuperado de https://www.ucm.es/data/cont/docs/410-2014-10-07-GUION-PRACTICAS-QUIMICA%20ORGANICA-SEGUNDO-GRADO_2014-15.pdf
- Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. (2011). *Glicósidos*. Recuperado de <http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacognosia/wp-content/uploads/2009/04/TP5-GLICOSIDOS-III-2011->



LA PRODUCCIÓN EDITORIAL E IMPRESIÓN DE ESTA OBRA
FUERON REALIZADOS POR
ENTRELIBROS E-BOOK SOLUTIONS
COLOMBIA - 2018
www.entrelibros.co

Sede Principal: PBX: 667 1515 | informes@uniagraria.edu.co | Calle 170 No. 54A-10 Bogotá - Colombia
Sede Facatativá: PBX: 890 0737 | Carrera 2 No. 4-21 Facatativá - Colombia
Sede Quinta Camacho: Tel: 926 1860 | Calle 70 No. 10A-59 Bogotá-Colombia



UNIAGRARIA
Fundación Universitaria Agraria
de Colombia

LA **U VERDE**
DE COLOMBIA

ISBN: 978-958-56645-4-8



9 789585 664548