

Potencial biotecnológico de *Tagetes lucida* Cav. y *Helianthus laciniatus* A. Gray como fuentes de colorantes naturales para la industria textilera

PADILLA-ESCAMILLA, Jazmín Patricia*†, LÓPEZ-RAMÍREZ, Varinia, MORALES-VARGAS, Adán y CARRILLO-LANDELL, Felipe

Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Irapuato, Gto.

Recibido 3 de Abril, 2015; Aceptado 25 de Junio, 2015

Resumen

Algunos de los metabolitos secundarios producidos por plantas han sido utilizados por el hombre como colorantes. *Tagetes lucida* Cav. y *Helianthus laciniatus* A. Gray, son dos malezas de amplia abundancia en el Bajío y utilizadas principalmente para fines medicinales. En este trabajo se evaluó su potencial como fuentes de colorantes para textiles. Las flores fueron colectadas de los terrenos del ITESI y los pétalos fueron secados a 65°C y 110°C y posteriormente pulverizados. Los extractos metanólicos concentrados se sometieron a pruebas de tinción a 100, 120 y 140°C. Se evaluaron dos mordientes diferentes; NaOH al 30% y (NH₄)₂SO₄ al 25%. El análisis de varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas entre el contenido de pigmentos (antocianinas y carotenoides) ($P < 0.05$) según la especie de planta estudiada, además la temperatura de secado de los pétalos influyó sobre la estabilidad de los pigmentos ($P < 0.05$). En los experimentos de tinción se observaron diferencias significativas para todas las variables independientes estudiadas ($P < 0.05$). Las pruebas señalan que estas especies tienen potencial biotecnológico para teñir firmemente tejidos de algodón para su aplicación en la industria textil.

Pigmentos, textiles, biotecnología

Abstract

The secondary metabolites from plants have been used by human as dyes. *Tagetes lucida* Cav and *Helianthus laciniatus* A. Gray, are two weeds of wide abundance in the Bajío zone and primarily used for medicinal purposes. In this work was evaluated their potential as dyes in textiles. The flowers were obtained from the land of the school (ITESI) and the petals were dried at 65 °C and 110 °C and then pulverized. The methanolic extracts concentrates were tested for staining reactions at 100, 120 and 140 °C. Were also tested two different mordants; 30% NaOH (30%) and (NH₄)₂SO₄ (25 %). The analysis of variance (ANOVA) showed meaningful differences between the content of pigments (anthocyanins and carotenoids) ($P < 0.05$) according to the tested, also the drying temperature of the petals influenced the stability of the pigments ($P < 0.05$). In the staining experiments significant differences were observed in all the independent studied variables ($P < 0.05$). The tests point out that these species have biotechnological potential to dye strength the cotton tissues for their application in the industry.

Pigments, textil, biotechnology

Citación: PADILLA-ESCAMILLA, Jazmín Patricia, LÓPEZ-RAMÍREZ, Varinia, MORALES-VARGAS, Adán y CARRILLO-LANDELL, Felipe. Potencial biotecnológico de *Tagetes lucida* Cav. y *Helianthus laciniatus* A. Gray como fuentes de colorantes naturales para la industria textilera. *Revista de Ciencias Naturales y Agropecuarias* 2015, 2-3:477-489

* Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: 5patyescamilla@gmail.com)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

El metabolismo secundario comprende una serie de reacciones desencadenadas principalmente en respuesta a diferentes tipos de estrés. En plantas la producción de metabolitos secundarios representa una importante respuesta ante patógenos. Estos metabolitos pueden afectar de manera considerable la salud de los organismos atacantes, incluso para los humanos; sin embargo, en el reino vegetal se encuentran ampliamente distribuidos metabolitos secundarios benéficos, que el hombre ha utilizado desde hace siglos, constituyendo, entre otras cosas, la base para la farmacéutica actual y para la formulación de productos ecológicos (Wink, 2010).

Existen diferentes tipos de metabolitos secundarios, los cuales se agrupan en función de su estructura química. En este trabajo nos enfocamos en la determinación de carotenoides y antocianinas y para su aplicación en la tinción de telas, a partir de dos tipos de malezas que comúnmente se emplean en la medicina tradicional *Tagetes lucida* Cav. y *Helianthus laciniatus* A. Gray.

Revisión de literatura

Una característica de las plantas y otros organismos sésiles, los cuales no pueden correr en caso de peligro, ni tienen un sistema inmune para combatir patógenos, sino sólo una respuesta sistémica (He et al., 2002), es su capacidad para sintetizar una enorme variedad de compuestos de bajo peso molecular, llamados metabolitos secundarios. En la Tabla 1 se proporciona un estimado del número de metabolitos secundarios descritos en plantas (Wink, 2010)

Biosíntesis de metabolitos secundarios

Algunos metabolitos secundarios son producidos en todos los tejidos, pero su formación es generalmente específica de órganos, tejidos y células. Aunque en la mayoría de los ejemplos no se han elucidado detalles, puede asumirse que los genes del metabolismo secundario son también regulados de forma específica. Esto significa que una batería de factores de transcripción y respuestas tempranas por diversos elicitores (Vasconsuelo y Boland, 2007) específicos cooperan a medida que los genes del metabolismo secundario se activan y transcriben. Estos reguladores maestros, controlan la maquinaria general de rutas biosintéticas, transporte y almacenamiento (Wink, 2010).

Los sitios de biosíntesis están compartimentalizados en la célula vegetal. Mientras la mayoría de las rutas biosintéticas ocurren (al menos parcialmente) en el citoplasma, hay evidencia de que algunos alcaloides (tales como coniína, quinolizidinas y cafeína), furanocumarinas y algunos terpenos (como mono- y di-terpenos, fitol, y carotenoides que se forman por la ruta del piruvato/gliceraldehído fosfato) son sintetizados en el cloroplasto (Wink, 2010)

Biosíntesis de terpenoides

La clase más grande de metabolitos secundarios es, indudablemente, la de los terpenoides o isoprenoides. Han sido reportados más de 36,000 miembros individuales de esta clase y nuevas estructuras están siendo añadidas a una tasa de cerca de 1000 cada año. Las compilaciones de terpenos recientemente descritos aparecen periódicamente.

Los terpenoides no sólo son numerosos sino también extremadamente variables en estructura, presentando miles de esqueletos de carbono diferentes y una gran clasificación de grupos funcionales. A pesar de su diversidad, todos los terpenoides están unificados por el modo en que se sintetizan: la fusión de unidades de C5 con una estructura isoprenoide (IPP).

La ruta biosintética de terpenoides esta formada por cuatro etapas, la primera involucra la formación de IPP, la unidad biológica de isopreno de cinco carbonos. Las plantas sintetizan IPP y su isómero alílico, DMAPP (Dimetilalil difosfato), por alguna de las dos rutas, mejor conocidas como la ruta del ácido mevalónico y la ruta del metileritritol fosfato. En la segunda etapa, las unidades básicas de C5 se condensan para generar tres prenils difosfato más grandes; geranyl difosfato (GPP, C10), farnesil difosfato (FPP, C15) y geranylgeranyl difosfato (GGPP, C20). En la tercera etapa, los compuestos difosfato de C10-C20 sufren un amplio rango de ciclizaciones y rearrreglos para producir esqueletos de carbono parentales de cada clase de terpeno. El GPP es convertido a los monoterpenos, FPP es transformado a sesquiterpenos y GGPP forma los diterpenos. FPP y GGPP pueden también dimerizarse para formar precursores de C30 y C40, respectivamente (Wink, 2010). En las plantas superiores el 15-cis-fitoeno (precursor formado por la dimerización de geranylgeranyl difosfato o GGPP) experimenta una serie de deshidrogenaciones dependientes de NAD⁺ que lo transforman en licopeno. Este compuesto se cicla por acción de la enzima dependiente de FAD⁺ para originar carotenoides cíclicos, que presentan anillos terminales de ionona (Fett-Neto, 2010).

La última y cuarta etapa comprende una variedad de oxidaciones, reducciones, isomerizaciones, conjugaciones y otras transformaciones por las cuales el esqueleto carbonado parental de cada clase de terpeno es convertido a miles de metabolitos terpénicos distintos (Wink, 2010)

Tipo de metabolito secundario	No. aproximado de estructuras conocidas
Con Nitrógeno	
Alcaloides	21,000
Proteínas no aminoácidas	700
Aminas	100
Glicósidos cianogénicos	60
Glucosinolatos	100
Alcámidas	150
Lecitinas, péptidos, polipéptidos	2,000
Sin Nitrógeno	
Monoterpenos (C10)	2,500
Sesquiterpenos (C15)	5,000
Diterpenos (C20)	2,500
Triterpenos, esteroides, saponinas (C30)	5,000
Tetraterpenos (C40)	500
Flavonoides, taninos	5,000
Fenilpropanoides, lignina, cumarinas, lignanos	2,000
Poliacetilenos, ácidos grasos	1,500
Policétidos	750
Carbohidratos, ácidos orgánicos	200

Tabla 1 Número de metabolitos secundarios conocidos en plantas superiores (Wink, 2010)

Biosíntesis de antocianinas

Las antocianinas, sintetizadas por la ruta de flavonoides, han brillado en el interés de biólogos, químicos y enólogos por contribuir en el color (naranja, rosa, rojo, azul y púrpura) de uvas y productos vitivinícolas.

Los compuestos fenólicos a los cuales pertenece el grupo de los flavonoides y por lo tanto las antocianinas, son sintetizados por varias rutas, entre las que destacan la ruta del ácido shikímico y la del ácido malónico. En el caso de la biosíntesis de flavonoides, el p-cumaroil-CoA, derivado de L-fenilalanina en el metabolismo general de los fenilpropanoides, se condensa con tres moléculas de malonil-CoA por medio de la enzima chalcona sintasa (CHS) para formar la naringenina-chalcona. En uva (*Vitis vinifera*) hay al menos tres genes que codifican para CHS: Chs1 (AB015872), Chs2 (AB066275), and Chs3 (AB066274), que se transcriben bajo distinto control. Sin embargo, su producto, la naingenina-chalcona no solo es usado en la síntesis de antocianinas o proantocianidinas, sino en la formación de otros compuestos fenólicos (He et al., 2010).

Existen diversos factores que afectan la estabilidad de las antocianinas como son el pH, donde las antocianinas extraídas de trigo azul y morado se muestran más estables en un medio ácido que en un medio neutro o alcalino (Aguilera et al., 2011). Como fue el caso de la antocianina extraída de exocarpo de frutos de *Renealmia alpina*, la cual mostró coloraciones más fuertes en un rango de pH de 4 a 6 (Noriega et al., 2011).

Aplicaciones de carotenoides

Los carotenoides proporcionan una amplia variedad de funciones fisiológicas que benefician la salud humana, sirviendo como antioxidantes en ambientes lipofílicos y como filtros de luz azul en la retina humana. Estos compuestos de la dieta sirven como precursores de un conjunto único de compuestos de hidrólisis de carotenoides, incluyendo a los retinoides (Linting, 2010).

Dentro de los beneficios a la salud también destaca su importante papel como precursores en la síntesis de las vitaminas A y E. Mecanismos como los ya antes mencionados, se han perfeccionado con herramientas de ingeniería metabólica y genética para lograr mejor comprensión de la interacción entre los metabolismos de diferentes especies. Además, son pigmentos importantes así como complementos nutricionales de interés (DellaPenna y Pogson, 2006).

Descripción de los modelos de estudio

Tagetes lucida Cav.

Conocida como “pericón”, es una especie típica del paisaje en las regiones templadas; se utiliza en varias ceremonias agrícolas, y como medicinal y ornamental. Esta es una planta herbácea perenne, erecta, la cual puede alcanzar una altura de 80 cm con un periodo de floración de julio a diciembre (Calderón y Rzedowski, 2008).

Esta especie ha sido ampliamente utilizada tanto tradicional como científicamente sobretodo en el territorio mexicano. Dentro de los usos medicinales, destaca su aplicación para el tratamiento de diferentes enfermedades del sistema nervioso central, principalmente la depresión; aunque por otro lado también se ha observado un efecto potencial adverso del comportamiento sexual masculino en ratones a diferentes concentraciones (Guadarrama-Cruz et al., 2008). También se ha usado como aditivo alimenticio y evaluado la extracción del colorante a distintas temperaturas de secado (Siriamornpun et al., 2012).

De este mismo género, se han identificado fitoquímicos y compuestos bioactivos que presentan actividad antimutagénica y anti oxidativa y como herbicidas (Li-wei et al., 2012).

Helianthus laciniatus A. Gray

Coloquialmente conocido como girasol silvestre, esta especie se ha reportado en alrededor de 15 estados de la República Mexicana. Esta planta perenne puede alcanzar longitudes mayores a 1 m. Su floración es amarilla en forma de disco y se encuentra distribuido ampliamente entre las malezas.

Los estudios de este tipo de flor tienen una mayor tendencia sobre *Helianthus petiolaris*, que *Helianthus laciniatus*. Los estudios van dirigidos a su variedad silvestre desde el punto de vista morfológico y genotípico (Gutiérrez et al., 2009).

Metodología

Diseño general de trabajo

La fase experimental del proyecto comprende cuatro etapas. La primera de estas se refiere a la recolección de las flores y su correspondiente secado a dos temperaturas diferentes. En la siguiente etapa se realizó la cuantificación de los carotenoides totales de los pétalos de flores. La tercera etapa comprendió la cuantificación de antocianinas totales y, finalmente, la última etapa hace referencia a las pruebas de tinción (Figura 1).

Descripción del área de estudio

Las muestras de los modelos de estudio, *Tagetes lucida* Cav. y *Helianthus laciniatus* A. Gray, fueron colectadas en los terrenos del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) en la época posterior a las lluvias y analizadas en los laboratorios de las áreas químico-biológicas del ITESI.

Secado de los pétalos

Los pétalos de las flores de *Tagetes lucida* Cav. y *Helianthus laciniatus* A. Gray fueron separados después de su recolección para su deshidratación en un horno de secado a dos temperaturas: $65 \pm 3^\circ\text{C}$ y $110 \pm 3^\circ\text{C}$. Los dos tratamientos en condiciones de oscuridad hasta llegar a peso constante. Los pétalos secos fueron molidos hasta polvo fino y éste último guardado en oscuridad envuelto en papel aluminio para su posterior uso.

Preparación de extractos colorantes

La preparación de los extractos se realizó a partir de muestras de pétalos deshidratados (65 y 110°C) y pulverizados siguiendo el protocolo descrito por Siriamornpun et al., (2012). A 20 g de los respectivos pétalos de cada especie vegetal se colocaron 50 ml de metanol/HCl (100:1, v/v) e incubaron por 12 h a 37°C en completa oscuridad. El macerado obtenido fue centrifugado a 5,000 rpm durante 5 min y el sobrenadante fue recuperado y concentrado a temperatura controlada ($65 \pm 3^\circ\text{C}$) y baja presión (rotavapor). El rendimiento final del colorante vegetal se obtuvo por diferencia de pesos entre la masa inicial de los pétalos sometidos a la extracción menos la masa final después de la extracción y concentrado.

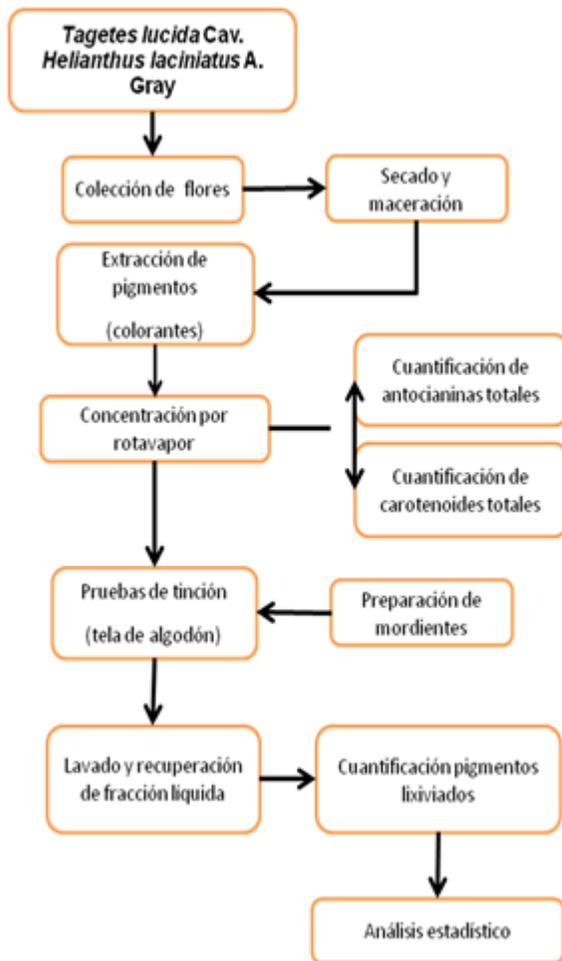


Figura 1 Diagrama general de trabajo.

Cuantificación de carotenoides totales

La extracción de los carotenoides se realizó adicionando 25 ml de acetona a 20 g de pétalos secos hasta obtener una pasta, la cual fue recuperada por filtración al vacío con un embudo Buchner. Esta operación se repitió cuatro veces hasta la decoloración total de la masa. El filtrado fue recuperado y transferido a un matraz con 40 ml de éter de petróleo e incubado por 1 h y centrifugado por un pulso de 1 min a máxima velocidad. Al sobrenadante recuperado se adicionaron 15 g de sulfato de sodio anhidro y se aforó a 50 ml con éter de petróleo.

La cuantificación de carotenoides totales se realizó siguiendo el método de Jaeger de Carvalho et al. (2012) con algunas modificaciones. El contenido total de carotenoides fue determinado usando un espectrofotómetro marca Spector 210. Las muestras de extractos fueron leídas a 450 nm. Los tratamientos se trabajaron por triplicado. El contenido total de carotenoides fue calculado usando la siguiente fórmula:

$$\text{Contenido carotenoides } (\mu\text{g/g}) = \frac{A \times V(\text{mL}) \times 10^4}{A_{1\%1\text{cm}} \times P(\text{g})}$$

Dónde: A= absorbancia, V= volumen total del extracto en ml, P= peso de la muestra en gramos, $A_{1\%1\text{cm}} = 2592$ (coeficiente de extinción del β -caroteno en éter de petróleo)

Cuantificación de antocianinas totales

La extracción de antocianinas consistió en resuspender 1 g de muestra en 200 ml de etanol al 20% y pH 2, durante 60 minutos a 90 °C, la cual fue filtrada a través de papel Wattman con la ayuda de una bomba de vacío. Una alícuota de 1 ml del extracto se diluyó en un volumen de 25 ml de cloruro de potasio (pH 1) y acetato de sodio (pH 4.5).

Al igual que en la cuantificación de carotenoides, se hicieron tres réplicas con tres repeticiones cada una. Para ello se realizaron cuatro determinaciones de absorbancia, a un pH de 1 y 4.5 y a una longitud de onda de 520 nm y 700 nm, respectivamente. La diferencia entre absorbancias a distintos pH's se le llama absorbancia diferencial, de la cual se saca el promedio entre las repeticiones de cada réplica y posteriormente se calcula la concentración de antocianinas

La cuantificación de antocianinas totales se realizó siguiendo el procedimiento descrito por Lee et al. (2008).

A las soluciones diluidas se les determinó el contenido de antocianinas según el método de pH diferencial utilizando el espectrofotómetro UV-Vis. Los tratamientos se realizaron por triplicado. Su contenido se expresó como cianidina-3-glucósido, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = A \times PM \times FD \times 1000 / (e \times l)$$

Donde A = (Abs.Extracto a pH 1.0 – Abs.Extracto a pH 4.5); PM = 449.2 g/mol para cianidina-3-glucósido; FD = Factor de Dilución = 0.04; (e x l) = l = longitud de paso de celda = 1 cm; e = 26,900 = Coeficiente de extinción molar para cianidina-3-glucósido; 1000 = factor de conversión de g a mg

Pruebas de tinción con extractos vegetales

Para las pruebas de tinción se utilizó tela de algodón blanca. Se probaron los diferentes extractos vegetales obtenidos de las dos especies de plantas, así como un control positivo (colorante comercial marca Mariposa con un tono del No. 612 amarillo).

Los mordientes utilizados fueron hidróxido de sodio (NaOH) al 30% y sulfato de amonio ((NH₄)₂SO₄) al 25%. Las pruebas de tinción también se realizaron en ausencia de mordiente. La solución mordiente se introdujo a la tela de algodón de manera que cubriera toda la fibra. Se calentó hasta llevar a ebullición y continuó en calentamiento por 30 min con agitación constante. Se retiró del fuego y se dejó enfriar.

Para los baños de tinción se preparó un volumen final de 200 ml en una relación extracto:tela de 1:10 (p/p). La tinción se llevó a cabo a una temperatura de 100 ± 3 °C, 120 ± 3 °C y 140 ± 3 °C. El tiempo de incubación fue de 45 min para cada tratamiento.

Después de transcurrido éste tiempo se hicieron tres lavados sucesivos con el mismo volumen de agua destilada. Para evaluar la fijación del colorante, se recuperó el agua de enjuague final y se midió su absorbancia a 520 nm. Por diferencia de absorbancias, la inicial antes de teñir y la final después de teñir, entre la absorbancia inicial, se calculó el porcentaje de fijación del pigmento (colorante).

Variables dependientes

Se consideraron como variables de respuesta: la concentración total de carotenoides-antocianinas en la etapa de extracción y el porcentaje de fijación del pigmento a las fibras en las pruebas de tinción (por diferencia de absorbancias).

El análisis estadístico se realizó mediante Análisis de Varianzas (ANOVA's) de los tratamientos, usando el software estadístico Minitab versión 15. Se usó un nivel de significancia de 0.05 para todas las pruebas.

Variables independientes

Las variables de control en este estudio fueron: 1) la temperatura de secado de los pétalos, 2) la temperatura de fijación del pigmento, 3) tipo de mordiente empleado y 4) fuente del pigmento (tipo de planta). Para cada variable independiente se emplearon tres niveles, excepto para la temperatura de secado de pétalos y la fuente del pigmento en los que se usaron sólo dos niveles. Se propuso un diseño factorial con las últimas tres variables de control, del cual resultaron 27 tratamientos por duplicado para la variable de respuesta “porcentaje de fijación del pigmento” (ver Tabla 4). En la determinación de carotenoides y antocianinas totales solamente se emplearon dos niveles para la temperatura de secado y tres réplicas.

Resultados y Discusión

Rendimiento de extractos

Respecto a los rendimientos de los extractos colorantes, se obtuvo un 2.9 % para *Helianthus laciniatus*, mientras que para *Tagetes lucida* se obtuvo un 3.67%. La optimización de los rendimientos ha sido un parámetro sujeto a experimentación en diferentes modelos vegetales. Se han desarrollado diferentes estudios donde se ha observado que los rendimientos no superan el 2% por métodos similares al aplicado pero con diferentes modelos vegetales. Por otro lado se ha observado que el método de extracción, desde los tipos de solventes, así como la temperatura de secado previo a la extracción o el efecto del ultrasonido influyen de manera importante en el rendimiento (Siriamornpun et al. 2012; Sivakumar et al. 2011; Almahy et al., 2013).

Determinación de carotenoides

Para evaluar la concentración de carotenoides totales se hicieron tres réplicas por tratamiento con tres repeticiones cada una de acuerdo a la Tabla 2. El análisis estadístico mostró diferencias significativas entre los modelos vegetales estudiados y entre las temperaturas de secado probadas ($P < 0.05$). Por lo tanto, en el rango de temperaturas de 65 a 110 °C, la estabilidad de los carotenoides se ve afectada, sugiriendo que cada especie vegetal tiene distinta sensibilidad al calor. Los carotenoides son pigmentos estables en su ambiente natural, pero cuando los alimentos se calientan, o cuando son extraídos en disoluciones aceitosas o en disolventes orgánicos, se vuelven mucho más lábiles. La concentración de los carotenoides totales puede ser expresada en diferentes unidades de acuerdo al método de cuantificación.

En los modelos vegetales evaluados se obtuvieron concentraciones que iban desde 111,37±2,51 hasta 195,96±1,88 µg/g y se puede apreciar que el aumento de la temperatura de secado sobre el contenido de carotenoides tiene un impacto negativo, independientemente de la especie vegetal (Tabla 2). Se puede observar en la misma tabla que la especie vegetal más sensible al calor fue *H. laciniatus*, con un 40% de pérdida de carotenoides totales al aumentar la temperatura de secado de la materia prima, mientras que para la otra especie la pérdida fue de tan sólo el 21%. Si bien, no existe un referente para el método aplicado a estos modelos vegetales, ensayos evaluados en frutos de calabaza muestran concentraciones que oscilan entre 234 µg/g y 404.9 µg/g (Jaeger de Carvalho et al., 2012), lo que sitúa a los tejidos florales estudiados en este trabajo con un contenido medio de estos metabolitos. Asimismo, la cantidad de carotenoides también se ha visto afectada negativamente en el procesamiento de vegetales a alta presión (McInerney et al., 2007).

Los factores que afectan el contenido medio de carotenoides y antocianinas totales se han realizado en diferentes estudios (McInerney et al., 2007; Noriega et al., 2011; Siriamornpun et al., 2012) como prueba presuntiva para brindar una perspectiva del valor de frutos y vegetales como alimentos nutraceuticos ingenierizados con rutas metabólicas (Diretto et al., 2007) o como fuente de ingredientes activos para la industria textil (Interiano-Ramírez y Servellon-Padilla, 2008; Osorio-Cuellar, 2011) y alimentaria (Restrepo-Gallego, 2007)

Determinación de antocianinas

En la Tabla 3 se puede apreciar que al igual como ocurrió con carotenoides, la temperatura de secado de los pétalos tuvo un efecto significativo (65°C y 110°C) sobre la concentración de antocianinas totales.

Y esta variación también fue notoria entre las dos especies vegetales estudiadas. No obstante, los valores obtenidos son parecidos a los encontrados en fresa fresca (0.422 mg/g), pero no así en sus respectivos productos procesados (néctar y jugo pasteurizado), lo que sugiere la sensibilidad de antocianinas al calor, las cuales se cuantificaron mediante el método de pH diferencial (Klopotek et al., 2005), el cual ha resultado ser tan bueno como el método por HPLC (Lee et al., 2008). Los resultados de este trabajo también fueron muy similares a los reportados en granos de maíz pigmentado tales como azul, rosa y morado con cantidades relativamente altas de antocianinas, especialmente en el maíz morado (1277 µg/g) (Aguilera et al., 2011).

Carotenoides totales (µg/g)		
T. secado (°C)	<i>T. lucida</i>	<i>H. laciniatus</i>
65	195,96±1,88 ^a	186,92±5,11 ^a
110	153,65±0,70 ^b	111,37±2,51 ^c

Diferencias significativas entre las medias ± Desviación estándar de los tratamientos (a, b, c) con un $\alpha=0.05$. Valores de $P<0.05$ para cada variable independiente. $n=3$

Tabla 2 Concentración de carotenoides totales en pétalos deshidratados de *T. lucida* y *H. laciniatus* a dos temperaturas de secado

Cabe señalar que las antocianinas fueron mucho más sensibles al calor que los carotenoides, pues la especie vegetal *T. lucida* mostró una reducción en el contenido de antocianinas de 2.61 veces al aumentar 45°C la temperatura de secado de los pétalos. *H. laciniatus* presentó una reducción de 1.5 veces en el nivel de antocianinas con el mismo diferencial de temperatura. La diferencia no fue más sutil al comparar las dos especies vegetales a una misma temperatura de secado (Tabla 3).

Pruebas de tinción

Para las pruebas de tinción se realizaron dos réplicas por tratamiento y se determinó el porcentaje de fijación del pigmento (Tabla 4). El análisis de varianza (ANOVA) indicó que las tres variables de control (fuente del colorante, temperatura de tinción y tipo de mordiente) mostraron diferencias significativas sobre el porcentaje de fijación del pigmento ($P<0.05$).

Como puede apreciarse en la tabla 4 y la figura 2, la especie vegetal *T. lucida* mostró un mayor porcentaje de fijación del pigmento comparado con *H. laciniatus* y ambas tuvieron porcentajes de fijación menores respecto del control positivo (colorante comercial). La mejor temperatura de tinción fue observada a 100°C y usando al sulfato de amonio como mordiente, aunque cabe señalar que no hubo diferencias significativas cuando se empleó NaOH como mordiente y cuando éste estaba presente (control negativo).

Antocianinas totales (mg/l)		
T. secado (°C)	<i>T. lucida</i>	<i>H. laciniatus</i>
65	1,28±0,01 ^a	0,51±0,029 ^b
110	0,49±0,04 ^b	0,34±0,012 ^{bc}

Diferencias significativas entre las medias ± Desviación estándar de los tratamientos (a, b, c) con un $\alpha=0.05$. Valores de $P<0.05$ para cada variable independiente. $n=3$

Tabla 3 Concentración de antocianinas totales en pétalos deshidratados de *T. lucida* y *H. laciniatus* a dos temperaturas de secado.

Tanto en las figuras 2 y 3 se presentan los análisis de efectos principales y de efectos de interacción entre variables, respectivamente. Inesperadamente la temperatura de tinción más baja fue la que influyó de manera más importante en la fijación del pigmento.

También se observó que el sulfato de amonio como mordiente contribuyó de forma significativa en el proceso de tinción.

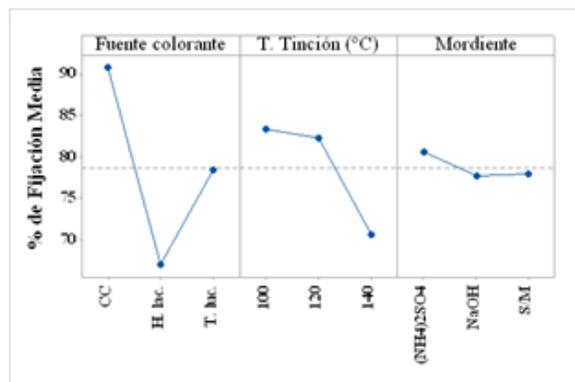


Figura 2 Gráfica de efectos principales para el porcentaje de fijación del pigmento sobre fibras de algodón. CC= Colorante comercial; H. lac.=H. laciniatus; T. luc.= T. lucida; S/M= Sin mordiente (control negativo). $\alpha = 0.05$. Valores de $P < 0.05$ para las tres variables.

Fuente del colorante	T. de tinción (°C)	Tipo de mordiente	% Fijación	
			R1	R2
<i>T. lucida</i>	100	(-)	84,52	84,48
<i>T. lucida</i>	100	1	84,56	84,52
<i>T. lucida</i>	100	2	88,96	88,93
<i>T. lucida</i>	120	(-)	84,37	84,26
<i>T. lucida</i>	120	1	84,70	84,48
<i>T. lucida</i>	120	2	91,30	91,26
<i>T. lucida</i>	140	(-)	70,37	70,04
<i>T. lucida</i>	140	1	63,63	63,78
<i>T. lucida</i>	140	2	53,30	53,41
<i>H. laciniatus</i>	100	(-)	69,15	69,30
<i>H. laciniatus</i>	100	1	69,37	69,22
<i>H. laciniatus</i>	100	2	80,22	80,33
<i>H. laciniatus</i>	120	(-)	67,37	67,59
<i>H. laciniatus</i>	120	1	67,67	67,81
<i>H. laciniatus</i>	120	2	73,81	73,63
<i>H. laciniatus</i>	140	(-)	56,11	56,26

<i>H. laciniatus</i>	140	1	60,93	60,70
<i>H. laciniatus</i>	140	2	57,37	57,67
CC	100	(-)	89,84	89,61
CC	100	1	90,06	89,87
CC	100	2	93,45	93,06
CC	120	(-)	89,77	88,87
CC	120	1	89,94	86,65
CC	120	2	93,58	93,81

...Continuación Tabla 4

CC	140	(-)	89,84	89,71
CC	140	1	89,97	90,26
CC	140	2	93,52	93,26

R1 y R2 = Réplicas 1 y 2 de cada tratamiento.

CC =Colorante comercial; (-) = Control sin mordiente; 1= NaOH y 2= (NH₄)₂SO₄. $\alpha = 0.05$. Valores de $P < 0.05$ para cada variable independiente en el ANOVA.

Tabla 4 Diseño experimental para el % de fijación del pigmento sobre telas teñidas a diferentes temperaturas y con dos mordientes distintos.

Existe un gran número de factores que influyen en la estabilidad del colorante en la tinción de fibras como son: la naturaleza de la fibra, la naturaleza del colorante, el tipo de mordiente y su compatibilidad con el colorante y con la tela a teñir, la temperatura de tinción, la concentración de los colorantes y de los mordientes, el tiempo de contacto, las condiciones de lavado y enjuague que permitan minimizar la pérdida tras lavados (Bechtold y Mussak, 2009).

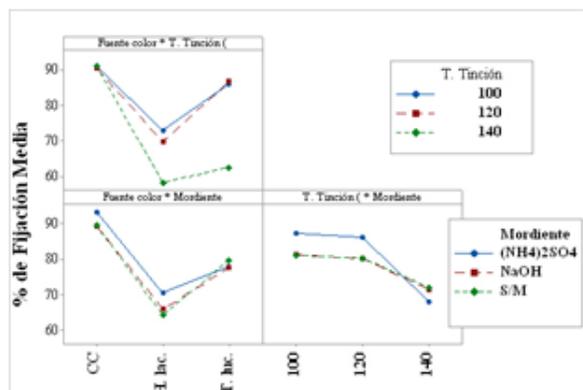


Figura 3 Gráfica de interacción entre variables para el porcentaje de fijación del pigmento. CC= Colorante comercial; H. lac.=H. laciniatus; T. luc.= T. lucida; S/M= Sin mordiente (control negativo). $\alpha = 0.05$.

Uno de los metabolitos donde más se ha observado el efecto de la temperatura es en los carotenoides. La influencia de la temperatura en la estabilidad de los pigmentos es clara; tanto para reacciones anhidras como hidratadas, siempre actúa como acelerador de la reacción de degradación. Esto se ve reflejado en el análisis estadístico, donde la temperatura mostró diferencia significativa en los niveles establecidos ($P < 0.05$) para las pruebas de tinción (Figuras 2 y 3). Debido a que el tiempo de contacto durante el proceso de tinción se mantuvo fijo a 45 min, se sugiere, en estudios posteriores, aumentar ligeramente el tiempo de contacto de la fibra a una temperatura de 100°C, sin llevar a ebullición (Interiano-Ramírez y Servellon-Padilla, 2008).

En la figura 3 se puede apreciar que H. laciniatus mantuvo porcentajes de fijación del orden de 70%, mientras que T. lucida se aproximaba al 80% con cualquier tipo de mordiente empleado. También se aprecia entre la interacción de variables “Fuente del colorante” Vs “Temperatura de Tinción” que la temperatura de 100°C mantuvo los niveles de fijación más altos en T. lucida más no en H. laciniatus.

No se observaron diferencias entre los porcentajes de fijación con el sulfato de amonio a 100 y 120°C y lo mismo se puede decir del NaOH.

Conclusiones

El secado de los pétalos a 65°C es preferente sobre la estabilidad de los pigmentos en los extractos colorantes de las especies vegetales probadas.

El modelo vegetal T. lucida mostró niveles más altos de carotenoides y antocianinas. Además sus extractos concentrados tuvieron los porcentajes más altos de fijación del pigmento.

La temperatura de tinción y la fuente del colorante muestran tener un efecto importante en la tinción de tela de algodón, por lo que se debe alargar el tiempo de contacto entre la fracción colorante y las fibras, manteniendo una temperatura de reacción mínima.

El sulfato de amonio como mordiente mostró los niveles más altos en el porcentaje de fijación. Sin embargo, no funcionó bien a 140°C. En estudios posteriores es posible omitir el uso de cualquiera de estos dos mordientes.

Referencias

Aguilera Ortíz Miguel, Reza Vargas María del Carmen, Chew Madinaveitia Rodolfo Gerardo y Meza Velázquez Jorge Armando (2011). Propiedades funcionales de las antocianinas. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora. 8: 16-22.

Almahy H.A., Ali M.A. and band Ali A.A. (2013). Extraction of Carotenoids as Natural dyes from the *Daucus carota* Linn (carrot) using Ultrasound in Kingdom of Saudi Arabia. Research Journal of Chemical Sciences. 3: 63-66.

- Bechtold T. y Mussak R. (2009). Handbook of natural colorants. USA. Wiley, 234-312.
- Calderón G. y Rzedowski J. (2008). Flora del bajío y de regiones adyacentes. Fascículo 157. Instituto de Ecología. 12-123.
- DellaPenna D. y Pogson B. (2006). Vitamin Synthesis in Plants: Tocopherols and Carotenoids. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57:711–738
- Diretto G., Al-Babili S., Tavazza R. y Giuliano G. (2007). Metabolic Engineering of Potato Carotenoid Content through Tuber-Specific Overexpression of a Bacterial Mini-Pathway. *Plos ONE* 4: 350-357.
- Fett-Neto A. G. (2010). Plant Secondary Metabolism Engineering Methods and applications. Londres, Inglaterra. Humana Press. 201-212.
- Guadarrama-Cruz G., Alarcón-Aguilar F. J., Lezama-Velasco R., Vazquez-Palacios G. y Bonilla-Jaime H. (2008). Antidepressant-like effects of *Tagetes lucida* Cav. in the forced swimming test. *Journal of Ethnopharmacology* 120: 277–281.
- Gutiérrez A., Delucchi C. y Proverene M. (2009). Inheritance of disc flower color in *Helianthus petiolaris*. *Helia* 32 (50): 51-58.
- He C.Y., Hsiang T, Wolyn D.J. (2002). Induction of systemic disease resistance and pathogen defence responses in *Asparagus officinalis* inoculated with nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum*, *Plant Pathol.* 51: 225–230.
- He F., Mu L., Yan G., Liang N, Pan Q. y Wang J. (2010). Biosynthesis of Anthocyanins and Their Regulation in Colored Grapes. *Molecules* 15: 9057-9091.
- Interiano-Ramirez C. I. y Servellon-Padilla I. Y. (2008). Obtención de un colorante natural a partir de las hojas de *Pteridium aquilinum* (helecho común) para su aplicación en la industria textil.
- Jaeger de Carvalho L. M., Barros Gomes P., Oliveira Godoy R. y Ramalho Ramos S. R. (2012). Total carotenoid content, α -carotene and β -carotene, of landrace pumpkins (*Cucurbita moschata* Duch): A preliminary study. *Food Research International* 47: 337-340.
- Klopotek Y., Otto K. y Bohm V. (2005). Processing Strawberries to Different Products Alters Contents of Vitamin C, Total Phenolics, Total Anthocyanins, and Antioxidant Capacity. *Journal of Agricultural and Food Chem.* 53(14): 5640-5646.
- Lee J., Rannaker C. y Wrolstand R. E. (2008). Correlation of two anthocyanin quantification methods: HPLC and spectrophotometric methods. *Food Chemistry* 110: 782–786.
- Linting J. (2010). Colors with functions: Elucidating the Biochemical and Molecular Basis of Carotenoid Metabolism. *Annu. Rev. Nutr.* 30:35–56.
- Li-wei X., Juan C., Huang-yang Q. I. y Yan-ping SHI. (2012). Phytochemicals and Their Biological Activities of Plants in *Tagetes* L. *Chinese Herbal Medicines*, 4(2): 103-117.
- McInerney J. K., Seccafien C. A., Stewart C. M. y Bird A. R. (2007). Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 8: 543–548.

Noriega Rivera P., Coba Santamaría P., Naiki J. y Abad J. (2011). Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción colorante obtenido a partir del exocarpo del fruto de *Renealmia alpinia*. *La Granja* 13(1): 13-20.

Osorio-Cuellar M. O. (2011). Extracción de un colorante natural a partir de los desechos de la corteza de *Myroxylon balsamum*. Tesis de licenciatura. El Salvador: 16- 28.

Restrepo-Gallego M. (2007). Sustitución de colorantes en alimentos. *Rev Lasillista de Investigación*. 4(1): 35-39.

Siriamornpun S., Kaisoon O. y Meeso N. (2012). Changes in colour, antioxidant activities and carotenoids (lycopene, β -carotene, lutein) of marigold flower (*Tagetes erecta* L.) resulting from different drying processes. *Journal of Functional Foods*, 4: 757-766.

Sivakumar V., Vijaeeswarri J. y Anna L. (2011). Effective natural dye extraction from different plant materials using ultrasound. *Industrial Crops and Products* 33(1): 116-122.

Vasconsuelo A. y Boland R. (2007). Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science* 172: 861–875.

Wink M. (2010). Biochemistry of Plant Secondary Metabolism. *Annual Plant Review*: 1-19.