

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA  
UNAN – LEÓN**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**FARMACIA**



**“IDENTIFICACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES (A, E Y D)  
E HIDROSOLUBLES (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> Y C) EN LA CORTEZA DEL GÉNERO  
*Uncaria* EN LA ESPECIE *tomentosa* NICARAGÜENSE”.**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO  
QUÍMICO-FARMACÉUTICO**

**AUTORES:**

- Br. Celedonia Aguirre Ortiz.
- Br. María Lissette Altamirano Osorio.

**TUTOR:**

**Lic. Kelvin Núñez Martínez.**

**ASESOR:**

**Lic. Edwin Castillo Martínez.**

**León, Abril de 2003**



## INDICE

INTRODUCCIÓN .....	6
OBJETIVOS.....	8
MARCO TEÓRICO .....	9
I.    VITAMINAS .....	9
II.   COLORIMETRÍA .....	28
III.  SEPARACIONES CROMATOGRÁFICAS .....	29
IV.  TAXONOMÍA DE LA UÑA DE GATO .....	38
HIPÓTESIS.....	50
DISEÑO METODOLÓGICO .....	51
RESULTADOS .....	68
ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	71
CONCLUSIÓN.....	73
RECOMENDACIONES.....	74
BIBLIOGRAFÍA.....	75
ANEXOS.....	77



# DEDICATORIA

¿Cómo llegué hasta aquí?- Alguien me empujó, alguien debió haberme puesto en esta dirección, alguien debió sostenerme, porque no podría sobrevivir lejos de mi familia, de mi tierra, de mi hogar aún así he perdido lo más valioso mi espiritualidad, esto me hace pensar, reflexionar que la vida está llena de retos, desafíos, objetivos y que ésta vida no es todo cuanto hay, he terminado un capítulo de mi vida y prosigo el siguiente de recuperar lo perdido con la ayuda sin duda de personas muy especiales, que me han apoyado incondicionalmente todos estos años; a las cuales doy mi dedicatoria:

A **Jehová Dios** por su amor, bondad, gran paciencia y misericordia, que ha sido un padre tierno que me ha demostrado su amor por medio de enseñarme, no ha pasado por alto mis errores sino que me ha disciplinado para mi beneficio y llegar hacer una excelente persona acepta a sus ojos.

A mis padres : Marcelino Aguirre Fonseca y Flora Ortiz Chávez, por darme lo mejor de ellos, fruto de su trabajo constante, una herencia espiritual y seglar, apoyándome a pesar de mis errores en los momentos más felices y tristes de mi vida.

A mis hermanos: **Patricia, Rosalba, Vladimir y Julio Alberto**, por su sacrificio y apoyo, ser mi inspiración, la razón de seguir siempre adelante, me han dado parte de ellos a pesar de la distancia me hicieron llegar esa vos que me infundió valor.

A las familias y personas de la ciudad de León que me brindaron hospitalidad, fueron una casa abierta a una forastera, acogiéndome en muchas ocasiones como parte de su familia, brindándome el calor de su hogar cuando lo necesité.

**CELEDONIA AGUIRRE ORTIZ**



# DEDICATORIA

## A DIOS:

*Por guiarme a través de la senda de la verdad, la fe cristiana y todos los campos del conocimiento. Por ser camino de vida, dador del pensamiento y que con su don divino me condujo hasta concluir mi esfuerzo y trabajo con éxito.*

## A MI PADRE:

*Gustavo Altamirano Meléndez (q.e.p.d.) porque en todo momento de su vida trabajó incansablemente para forjarme un futuro mejor y brindarme la oportunidad de ser una profesional al servicio de la sociedad.*

## A MI MADRE:

*Rosalía del Socorro Osorio por darme todo su apoyo, abnegación y amor incondicional aún en los momentos más difíciles de mi vida, dándome el mejor ejemplo de humildad, dedicación al trabajo y buenos principios.*

## A MIS HERMANOS:

*Abraham Heriberto, Gustavo Javier y Álvaro Rafael; por ayudarme siempre, darme buenos consejos y compartir conmigo la ilusión de haber cumplido con éxito uno de mis mayores anhelos, manteniéndonos siempre unidos.*

## A MIS AMIGOS:

*Que siempre me han impulsado y animado a no dejarme vencer por las dificultades y han permanecido conmigo en los buenos y malos momentos.*

*“Los que se estancan jamás entenderán la belleza de caminar sin miedo de llegar al destino ...”*

*P. Zezinho*

**BR. MARIA LISSETTE ALTAMIRANO OSORIO**



# AGRADECIMIENTO

*Deseamos agradecer con mucho aprecio y gratitud a todas aquellas personas que nos brindaron su apoyo incondicional para el desarrollo de nuestro trabajo.*

*A nuestro tutor:*

*Lic. Kelvin J. Núñez Martínez por habernos guiado durante la realización de nuestro trabajo, darnos sugerencias y hacer las correcciones necesarias para poder presentar una investigación de calidad y de gran valor científico, brindándonos la confianza para alcanzar la meta que nos trazamos satisfactoriamente.*

*A nuestro asesor:*

*Lic. Edwin M. Castillo Martínez por haber brindado grandes aportes científicos y prácticos a la realización de nuestro trabajo.*

*A nuestro decano:*

*Dr. Francisco Beteta Coordinador del proyecto “Estudio fitoquímico de la corteza de *Uncaria tomentosa* nicaragüense” por facilitarnos los recursos materiales y de laboratorio.*

*A nuestro colaborador y amigo:*

*Lic. Álvaro R. Altamirano Osorio por brindarnos su constante apoyo y generoso aporte de medios técnicos durante la reproducción de nuestra tesis.*



## INTRODUCCIÓN

En la naturaleza existen entre 250 000 a 500 000 especies vegetales, de las cuales se estima que al menos del 10% han sido estudiadas en sus aspectos químicos o farmacológicos. Un grupo importante son las llamadas plantas medicinales, el uso de éstas como fuentes de nuevos fármacos puede ser más económico y rentable de lo que comúnmente se cree. Actualmente son alrededor de 120 compuestos químicos derivados de plantas de los que se utilizan como agentes terapéuticos, menos de una docena de ellos se producen comercialmente por síntesis o modificación química del compuesto natural, los restantes se extraen y purifican directamente de plantas pertenecientes a unas 90 especies.

Nuestro país es dueño de una envidiable biodiversidad, con un uso tradicional de plantas para el tratamiento de variadas afecciones, sin embargo, su conocimiento científico es escaso, la fitoterapia es una alternativa accesible, tanto para la prevención de enfermedades como en la terapia de diversas patologías.

Con el fin de contribuir a este conocimiento pretendemos realizar un estudio más a fondo orientado a la identificación de los componentes vitamínicos activos de interés en la ***Uncaria tomentosa*** (Willd) nicaragüense. Esta especie ha sido considerada por muchos científicos como la planta de fin de siglo por los resultados obtenidos de los análisis realizados anteriormente, los cuales confirman su alto índice de beneficios, sobre todo acciones de tipo inmoestimulantes, antiinflamatorios, antioxidantes, antimutágenos y antivirales.

El empleo progresivamente mayor de las vitaminas en las industrias farmacéuticas y en las de productos alimenticios, confiere una importancia extraordinaria a su detección y determinación cuantitativa, incluso para los especializados en este campo analítico es muy difícil actualmente seleccionar la solución apropiada para un problema particular a partir del auténtico torrente de información bibliográfica que ha aparecido y sigue apareciendo sobre el análisis de vitaminas.

El conocimiento de la distribución y abundancia de las vitaminas en todo tipo de materiales y orígenes ha constituido uno de los principales problemas desde que se inició la investigación sobre estos compuestos. Por ello se ha prestado siempre una gran atención a los métodos de identificación, caracterización para su detección y análisis. Pero el interés actual acerca de la determinación de vitaminas en productos naturales no ha decrecido y puede afirmarse que no disminuirá en el futuro. Finalmente, el empleo progresivo de vitaminas sintéticas en Farmacia y en las industrias de la alimentación humana y animal ha proporcionado un estímulo todavía mayor al perfeccionamiento y amplia aplicación de los métodos para la determinación de vitaminas en los laboratorios analíticos de los centros universitarios, industriales, comerciales y estatales.



Esta investigación fitoquímica tiene como propósito brindar datos valiosos a organismos, instituciones y empresas que estén involucradas en el estudio de plantas medicinales entre los que se encuentran: *Primero*, el sector industrial fitofarmacéutico, contaría con una materia prima confiable para los procesos productivos generando nuevos productos naturales en forma sostenible y competitiva en beneficio de la salud de la población. *Segundo*, las autoridades reguladoras de los países, contarían con información suficiente de las plantas nativas de interés para regular su uso.



## OBJETIVOS

### Objetivo general:

- Identificar la presencia de vitaminas liposolubles e hidrosolubles en la corteza del género **Uncaria** en la especie **tomentosa** nicaragüense.

### Objetivos específicos:

- Identificar la presencia de vitaminas liposolubles (A, E y D) e hidrosolubles (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> y C) a través de técnicas colorimétricas.
- Evaluar la presencia de vitaminas liposolubles e hidrosolubles mediante Cromatografía en capa fina.
- Contribuir al conocimiento fitoquímico de la flora nativa del género **Uncaria** en la especie **tomentosa** nicaragüense.



# MARCO TEÓRICO

## I. VITAMINAS

Las vitaminas son sustancias químicas no sintetizables por el organismo presentes en pequeñas cantidades en los alimentos que son indispensables para la vida, la salud y la actividad física cotidiana.

Las vitaminas son compuestos orgánicos. Su ausencia total en nuestro organismo a través de los alimentos provoca enfermedades graves y finalmente mortales como el escorbuto, beriberi, etc.. Su deficiencia o carencia moderada produce otros trastornos, aunque menos graves. Sin ellas no podemos aprovechar la fuerza y energías que los alimentos contienen.

Las vitaminas no producen energía, por tanto no producen calorías. Estas intervienen como catalizador en las reacciones bioquímicas provocando la liberación de energía. En otras palabras, la función de las vitaminas es la de facilitar la transformación que siguen los sustratos a través de las vías metabólicas.

Las vitaminas pueden ser clasificadas en dos grupos:

-Vitaminas hidrosolubles, o sea las que se disuelven en el agua. Por ejemplo la vitamina C y todas las del grupo B, B<sub>1</sub> (tiamina), B<sub>2</sub> /riboflavina), B<sub>3</sub> (niacina), B<sub>5</sub> (ácido pantoténico), B<sub>6</sub> (piridoxina), B<sub>8</sub> (biotina), B<sub>9</sub> (ácido fólico), B<sub>12</sub> (cianocobalamina), B<sub>15</sub> (ácido pangámico). Las vitaminas hidrosolubles son las más frágiles y su aporte debe ser renovado constantemente, puesto que no quedan almacenadas en el organismo y se eliminan.

-Vitaminas liposolubles: Son aquellas que el organismo almacena en los tejidos, el hígado y la grasa. Son las vitaminas A, E, D y K. Existen dos clases de vitamina A. La primera, el retinol, procede del reino animal (carne, mantequilla, pescado...); la segunda, el caroteno, es de origen vegetal (legumbres, frutas rojas y anaranjadas : zanahorias, albaricoques...). Esos carotenos y carotenoides constituyen un grupo de vitaminas de fórmulas químicas y propiedades muy próximas que, en el organismo, tienen unas propiedades muy particulares (antioxidantes) y son transformadas en retinol.



### **Propiedades generales de las vitaminas:**

- Son compuestos orgánicos de estructura química variada, relativamente simples.
- Se encuentran en los alimentos naturales en concentraciones muy pequeñas.
- Son esenciales para un normal desarrollo y mantenimiento de los tejidos.
- No pueden ser sintetizados por el organismo razón por la cual deben ser provistas por los alimentos.
- Cuando no son aportados por la dieta o no son absorbidos en el intestino, se desarrolla en el individuo una carencia que se traduce por un cuadro patológico específico.

### **Métodos de valoración e investigación de vitaminas:**

Estos métodos pueden clasificarse en tres grandes grupos:

#### **Métodos biológicos:**

Los primeros análisis de vitaminas se hicieron empleando métodos biológicos. Los efectos específicos producidos por las vitaminas en animales de experimentación sirvieron de base para la valoración cuantitativa de las mismas. Los métodos químicos, físico-químicos y microbiológicos se han ido desarrollando gradualmente. Todavía hoy, los métodos biológicos son a veces indispensables para la determinación de vitaminas. Así, en la valoración de la vitamina D en piensos sólo se obtiene la adecuada especificidad empleando el ensayo biológico, puesto que los métodos químicos no son suficientemente específicos ni sensibles para las concentraciones de vitaminas D empleadas habitualmente en estos productos de nutrición animal. También se recurre a los métodos biológicos cuando se quiere determinar la facilidad de absorción o liberación de las vitaminas presentes en preparaciones farmacéuticas.

A pesar de la indiscutible ventaja que les proporciona su mayor selectividad, el empleo de los métodos biológicos se ha venido limitando sucesivamente, ya que requieren mayor tiempo para su ejecución, son normalmente caros y sus límites de error son con frecuencia muy amplios. La experimentación con animales ha quedado restringida, solo, a los casos en los que no pueden aplicarse los métodos químicos o físico-químicos a causa de que la concentración vitamínica es demasiado baja o porque lo imposibilitan algunos factores interferentes.



### **Métodos químicos:**

En los últimos veinte años las técnicas químicas y físico-químicas han ido reemplazando sucesivamente a los métodos biológicos en la investigación de rutina, especialmente en la industria farmacéutica. Son métodos más rápidos y baratos que los biológicos en la investigación y, en general, sus límites de error son mucho más estrechos. Sin embargo, debido a la escasa especificidad que poseen normalmente, los métodos químicos y físicos deben emplearse con ciertas reservas. Por ejemplo, cuando se analizan materiales de composición desconocida es conveniente determinar la vitamina que interesa no sólo por un método químico o físico-químico, sino por dos o más métodos, o bien comprobar los resultados, si es posible, mediante los exámenes biológicos y microbiológicos correspondiente. Cuando se emplean técnicas volumétricas y ópticas (fotométrica), es particularmente importante confirmar la exactitud de los resultados obtenidos mediante otros procedimientos antes de decidir su empleo en el análisis sistemático.

El análisis químico y físico-químico de las vitaminas está sometido a una serie de errores que son poco frecuentes, tanto en número como en variedad, en otros campos del análisis orgánico cuantitativo. Únicamente la determinación de vitaminas en fórmulas farmacéuticas concentradas puede considerarse relativamente sencilla. Las dificultades analíticas con que se tropieza siempre en la determinación de vitaminas en alimentos, productos naturales y piensos, pueden ser superadas exclusivamente con paciencia, experiencia, habilidad experimental y el previo conocimiento de los diversos tipos de error y de interferencias que puede plantearse.

No existe método de análisis alguno que sea aplicable a todos los tipos de muestra. La elección del método debe estar siempre condicionada por las propiedades individuales y la composición del material en estudio.

El arte del analista experimentado consiste en la elección de la combinación correcta de técnicas para la extracción, aislamiento, purificación y medida.

### **Métodos microbiológicos:**

Los métodos microbiológicos han sido ampliamente utilizados en la determinación de las vitaminas del grupo B. La especificidad y exactitud de los métodos microbiológicos puede incrementarse, con frecuencia, mediante la aplicación de métodos modernos de separación (cromatografía de intercambio iónico, cromatografía en capa fina, etc).



### **Factores interferentes en los métodos físico-químicos:**

La presencia de impurezas interfiere notablemente con la determinación química o físico-química de las vitaminas en productos naturales, en los cuales su concentración es habitualmente muy pequeña. Estas interferencias son menos sensibles y frecuentes en el caso de productos farmacéuticos, por ejemplo, en los que la concentración vitamínica es relativamente alta. Las sustancias reductoras presentes en los diversos materiales de origen natural (derivados tiólicos, sistemas redox, etc) o añadidas como conservadores (ácido sulfuroso, por ejemplo) pueden interferir en determinaciones tan precisas en su ausencia como la del ácido ascórbico por el 2,6-diclorofenolindofenol y proporcionar cifras erróneamente elevadas del contenido en vitamina C.

Las reacciones coloreadas carecen normalmente de la especificidad que sería deseable para la vitamina cuya valoración interesa, ya que, salvo casos particulares, estas reacciones ponen de manifiesto únicamente ciertos grupos funcionales o determinadas partes de la molécula total. Así, la determinación fotométrica del ácido fólico depende exclusivamente del grupo 4-aminobenzoil – glutámico de su molécula.

### **Formas de incrementar la especificidad:**

La falta de especificidad de los métodos químicos de análisis puede compensarse algunas veces mediante el empleo simultáneo de técnicas basadas en reacciones características de distintos grupos funcionales u otras propiedades de la molécula de la vitamina en estudio. Sólo cuando concuerdan plenamente los resultados hallados en los diferentes métodos aplicados, puede tenerse la certeza de que el valor obtenido corresponde al contenido real de la vitamina en la muestra problema. Si los diversos resultados varían, no puede obtenerse el valor correcto deseado. Cuando esto sucede (no es infrecuente), el problema puede solucionarse sometiendo a la muestra a un riguroso procedimiento de purificación que elimine las sustancias interferentes.

En general, la especificidad de los métodos químicos y físico-químicos puede aumentarse notablemente si la vitamina objeto del análisis se logra aislar a partir de la muestra analítica en el mayor grado de pureza posible. Únicamente de este modo se consigue un análisis exacto. Los procedimientos cromatográficos de separación y purificación han demostrado ser muy apropiados para este fin. Son métodos versátiles, tanto en su aplicación como en su técnica, y han sido incorporados con gran éxito a los procedimientos de determinación químicos y físico-químicos.



### **Límites de error:**

Los procedimientos de separación que son necesarios para eliminar sustancias interferentes en las determinaciones químicas de mezclas complejas y materiales de origen natural pueden incrementar considerablemente los errores químicos. Los valores dados en la literatura como límites de error para diversos métodos de valoración de vitaminas son considerablemente bajos. Debe quedar bien claro que los límites de error de una medida determinada no son indicación del error total de un análisis de vitaminas, que pueden ser varias veces superior. En el análisis de preparación farmacéutica el intervalo varía entre  $\pm 1$  por 100 y  $\pm 10$  por 100, de acuerdo con la concentración de vitaminas en la fórmula y las dificultades del método de determinación. En preparaciones poli vitamínicas es probable que el intervalo no sea inferior a  $\pm 5$  por 100, y en el análisis de alimentos y piensos es con frecuencia mayor de  $\pm 10$  por 100 en casos, excepcionales el resultado analítico puede desviarse del verdadero contenido vitamínico en más del 20 por 100. En consecuencia, el método analítico empleado debe ser siempre examinado críticamente, particularmente en la determinación de vitamina en alimentos y piensos.

### **Comprobación del método empleado:**

La cromatografía en capa fina ha permitido detectar y valorar vitaminas en mezclas complejas y en productos naturales por nuevos métodos químicos, al mismo tiempo que ha abierto ulteriores posibilidades de investigación y análisis en este campo. La importancia que se le reconoce a la cromatografía en capa fina para el análisis de vitaminas se refleja en la descripción realizada con el mayor detalle posible, de la experiencia acumulada sobre su aplicación, es valiosa como medio rápido de comprobación del método químico o físico químico empleado en el análisis de vitaminas.

### **Producto de degradación:**

La cromatografía en capa fina puede emplearse también muy satisfactoriamente para determinar la existencia de productos de degradación de las vitaminas en preparaciones farmacéuticas. Los productos inactivos por alteración o isomerización (por ejemplo, los de las vitaminas A y B) dan con frecuencia la misma reacción coloreada o muy similar que la vitamina original. El grado de descomposición de la vitamina o la especificidad de la determinación, pueden averiguarse mediante el examen por cromatografía en capa fina de la solución empleada en la medida colorimétrica.



## Vitamina A

### Propiedades fisicoquímicas:

Forma y color : cristales amarillentos que al fundirse forman un aceite viscoso.

Punto de fusión: 62 a 64°C.

Solubilidad: muy soluble en cloroformo y éter.

soluble en etanol y aceites vegetales.

casi insoluble en agua y glicerol.

Estabilidad: termoestable en un medio anaerobio, pero oxidable.

Necesidades diarias: la Organización Mundial de la Salud recomienda una ingesta diaria de 1.5 mg. de retinol para el adulto normal.

### Química:

La vitamina A es un alcohol primario en una cadena lateral alargada, de naturaleza alifática de 11 átomos de carbono, prendida al anillo constante de  $\beta$ -ionona, en esta cadena no saturada nos encontramos en la presencia de cuatro dobles enlaces conjugados lo que nos hace pensar en la posibilidad de que la cadena se forma por la unión de dos moléculas de Isopropeno (*Ver Anexo II*).

### Provitamina "A":

Los carotenos constituyen una importante clase de pigmentos naturales liposolubles caracterizados por una larga cadena carbonada que contiene dobles enlaces conjugados a los que deben su color.

Los esqueletos carbonados exhiben una estructura poliisoprenica con una apropiada distribución de grupos metilo, ello los relaciona en cuanto a su forma con los terpenos, de los cuales difieren por ser más insaturados. En general, los hidrocarburos de la serie tienen la fórmula  $C_{40}H_{56}$  con dobles enlaces *trans* y *cis* en compuestos naturales, y se encuentran también compuestos derivados oxigenados de los mismos. Están muy distribuidos en la naturaleza tanto en el reino vegetal como en el animal, pero en cantidades muy pequeñas.

El gran interés que tienen desde el punto de vista medicinal se debe a que algunos de ellos son provitaminas -A, es decir, son capaces de convertirse en el organismo vivo en vitamina A. El carotenoide biológicamente activo más importante como provitamina -A es el  $\beta$ -caroteno. La caracterización de estos compuestos fue difícil en sus comienzos. Además del hecho de que no es fácil aislarlos en grandes cantidades, la similitud entre varios isómeros es tal que difieren únicamente en la posición o estereoquímica de un doble enlace, de modo que la caracterización sólo se ha podido efectuar apropiadamente con técnicas de espectrofotometrías.



A parte de los hidrocarburos, se han aislado carotenoides oxigenados que normalmente los acompañan como: alcoholes, xantofilas, la luteína (pigmento carotenoides más difundido en la naturaleza), violaxantina (pigmento anaranjado) y rodoxantina (derivado cetónico). La clasificación generalmente aceptada de los carotenoides, basada en caracterizaciones estructurales son: acíclicos, monocíclicos, bicíclicos, aromáticos, alénicos, isoprenilados, glicósidos, degradados, triterpenoides.

### **Propiedades:**

- Es insoluble al agua y es, sin duda, la más importante, en especial para los animales de vida más compleja, en los que nos incluimos los seres humanos. Es antiartrítica y necesaria para el crecimiento. Reconstruye los huesos y enriquece la sangre. La cocción a bajo grado de temperatura, menor de 50°C, no mata su virilidad, pero a los 60°C ya disminuye su valor medicinal.
- Es la vitamina de la piel, de las faneras y de las mucosas.
- Facilita la visión nocturna.
- Ayuda a combatir de forma activa contra las bacterias.
- Si el equilibrio de las mucosas sufre disminución, las células muertas se van multiplicando, con lo que resultan propicias las condiciones para que proliferen las bacterias.
- Enfermedades que se originan por su ausencia: Pérdida de peso, de vigor y vitalidad, falta de crecimiento, de fuerza y de equilibrio glandular, infecciones en los ojos, adelgazamiento, acné, visión débil, mala digestión, diarrea, nefritis y piel áspera y reseca.
- Los niños requieren más vitamina A que los adultos.
- Las enfermedades que controla esta vitamina: La vitamina A otorga mayor resistencia a los tejidos, especialmente a los resfriados y las infecciones de los órganos respiratorios, senos nasales, oídos, vejiga, piel y tracto digestivo. Así mismo estimula el crecimiento y la sensación de bienestar.
- Estabilidad de la vitamina A: Las temperaturas al cocinar determinados alimentos que la contienen no le afectan mucho, mientras que el calor en presencia del oxígeno sí la destruye.
- Alimentos que la contienen: Se encuentra en: verduras verdes con hojas, verduras amarillas, espinacas, perejil, acelga, albaricoque, apio verde, col, repollo crudo higos, mandarina, melocotón, moras, nísperos, peras, sandías, uvas, escarola, hojas de remolacha, coles de Bruselas, mostaza, calabaza amarilla, leche, yema de huevo, quesos, plátanos, chabacanos, duraznos, melón, cerezas, aguacate, papaya, mango, ciruelas, piña. Alimento que más la contiene: jugo de zanahoria y hojas de limón.



## **Identificación:**

La vitamina A puede valorarse por la medida directa de su absorción en el ultravioleta o por su fotometría de sus reacciones coloreadas. La cromatografía en capa fina ha demostrado ser especialmente útil para la separación y detección cualitativa de los ésteres de vitamina A (acetato y palmitato) en presencia de vitamina A-alcohol. La determinación química o físico-química del  $\beta$ -caroteno se basa en la medida del color amarillo de sus soluciones en disolventes orgánicos. También por la medida y la curva de absorción a una longitud de onda ( $\lambda=465$  nm) del caroteno por dos máximos en situaciones muy próximas dependientes del solvente.

Los productos naturales especialmente materiales vegetales verdes, contienen, además del  $\beta$ -caroteno, diversos carotenos de los cuales se conocen actualmente alrededor de un centenar. Algunos de ellos son hidrocarburos del tipo del  $\beta$ -caroteno (por ejemplo,  $\alpha$ -caroteno,  $\gamma$ -caroteno, licopeno). Muchos de los carotenos que se hallan en los compuestos naturales son derivados oxigenados (alcoholes, aldehídos, ácidos carboxílicos, epóxidos). El número de carotenoides teóricamente posibles se incrementa notablemente por la presencia de isómeros *cis*, *trans*. Algunos de estos compuestos pueden ser convertidos en vitamina A en el organismo animal o humano y pueden considerarse, por tanto, como provitaminas A.

## Vitamina D<sub>2</sub>

### **Propiedades fisicoquímicas:**

Forma y color: Cristales blancos inodoros, largos prismas incoloros se descompone expuesto al aire y a la luz.

Punto de Fusión: 115 – 118°C

Solubilidad: Soluble en alcohol, cloroformo, éter y ácidos grasos, casi insoluble en agua.

Estabilidad: En ampollas apropiadas el ergocalciferol puede conservarse bajo refrigeración durante nueve meses.

*Ver Estructura en Anexo II*



## Vitamina D<sub>3</sub>

### **Propiedades fisicoquímicas:**

Forma y color : Cristales blancos, finas agujas blancas , se afecta por el aire, la luz y la temperatura.

Punto de Fusión: 82 – 87°C

Solubilidad: Soluble en alcohol, cloroformo, acetona, éter y en aceites grasos, insoluble en agua.

Estabilidad: En ampollas apropiadas el colecalciferol puede conservarse bajo refrigeración durante un año por lo menos.

Debido a la estrecha analogía estructural existente entre las vitaminas D, sus propiedades químicas son muy similares y en muchos aspectos prácticamente idénticas. (*Ver anexo III*)

Se han hecho ensayos dando la pequeñísima cantidad de Bios que puede caber en la punta de un alfiler a pequeños animalitos que estaban casi moribundos y han vuelto a la vida. Esta vitamina sirve para el crecimiento, nutriendo especialmente a la glándula tiroides. No conocemos el modo exacto de acción de la vitamina, pero sabemos que aumenta la absorción de calcio y fósforo a nivel del intestino, estimula la actividad de la enzima fosfatasa y es esencial para un crecimiento normal.

La cromatografía en capa fina ha constituido una valiosa aportación a los métodos cromatográficos para la separación de las vitaminas D. El método se realiza fácil y rápidamente y la separación alcanzada es más nítida que en los métodos de cromatografía en columna. Su mayor ventaja consiste en que proporciona, además del análisis cuantitativo, la identidad cualitativa.

### **Propiedades:**

- Enfermedades que ocasiona su ausencia: Raquitismo, huesos blandos, falta de fuerzas (astenia), fatiga, infecciones respiratorias, irritabilidad e inquietud, estreñimiento, ptosis, prolapsos, caries, retraso del crecimiento e inestabilidad del sistema.
- Las enfermedades que controla: Esta vitamina su principal función es aumentar la utilización de calcio y el fósforo, para la normal formación de huesos y dientes. Evita la tuberculosis y regula el metabolismo de los minerales.
- Su estabilidad: no le afectan ni el calor ni la oxidación.



- Provisionamiento: Es una vitamina proporcionada por el sol, al exponer nuestra piel a la luz solar, obteniendo una gran cantidad de ella. Los rayos solares contienen rayos ultravioleta que convierten el ergosterol de la piel en cantidades limitadas de vitamina D, y una pequeña cantidad de ésta queda acumulada en el cuerpo.
- Se encuentra en yema de huevo, legumbres, algas, aceites de pescado, hígado de bacalao, mantequilla, leche, verduras cultivadas al sol.

### **Identificación:**

La cromatografía en capa fina ha constituido una valiosa aportación a los métodos cromatográficos para la separación de las vitaminas D. En contraste con la cromatografía sobre papel en la que se producen pérdidas considerables, por descomposición de la vitamina D ensayada, la cromatografía en capa fina permite el aislamiento y recuperación cuantitativa de la vitamina D, siempre que se observen determinadas precauciones. El método se realiza fácil y rápidamente y la separación alcanzada es más nítida que en los métodos de cromatografía en columna. Su mayor ventaja consiste en que proporciona, además del análisis cuantitativo, la identidad cualitativa. La alta selectividad del procedimiento puesto a punto, para el análisis cuantitativo de la vitamina, se demuestra por la excelente concordancia que existe entre los resultados que se obtienen por éste método y los valores correspondientes hallados empleando métodos biológicos (en ratas, preventivos o curativos).

La cromatografía en capa fina ha sido utilizada sobre placas de sílica gel G para estudiar la descomposición que tiene lugar durante la hidrólisis alcalina y durante la cromatografía con tierras ácidas como adsorbentes. La isomerización térmica de las vitaminas D (por ejemplo, en benceno- cloroformo) a pro vitaminas D, así como la posición de equilibrio entre los dos productos de irradiación del ergosterol y 7-dehidrocolesterol puede seguirse perfectamente empleando la cromatografía en capa fina. Actualmente, la detección y análisis de las vitaminas D<sub>2</sub> y D<sub>3</sub> en productos crudos de irradiación no presenta dificultades.

### **Separación de la vitamina D de la vitamina A:**

Debe evitarse la hidrólisis de la muestra o extracto no sólo en atención a la isomerización, sino también –y fundamentalmente- debido a que las vitaminas D únicamente pueden separarse de las vitaminas A de forma completa cuando éstas se hallan presentes al estado de ésteres (acetato o palmitato de vitamina A). La presencia de cantidades notables de vitamina A-alcohol puede interferir el aislamiento de la vitamina D por cromatografía en capa fina. Por ello, la vitamina A libre debe eliminarse previamente por cromatografía de partición empleando una columna de Kieselguhr.



La cantidad de ésteres de vitamina A que pueden separarse de la vitamina D por cromatografía en capa fina es prácticamente ilimitada, dentro del intervalo normal de la relación vitamina A : vitamina D que se halla en los preparados farmacéuticos, aditivos alimenticios y productos similares. La mayoría de los procedimientos cromatográficos en columna propuestos en la bibliografía no presenta esta amplitud de márgenes de aplicación.

#### **Precauciones:**

Cuando se hallan depositados sobre una placa seca de silica gel, se produce en muy pocos minutos la descomposición parcial de las vitaminas D y precalciferoles. Por el contrario, estos compuestos son muy estables en la presencia del disolvente. Durante el desarrollo del cromatograma no se produce alteración alguna. En consecuencia, es absolutamente esencial, tanto para la identificación como para el análisis cuantitativo, que las cromatoplasmas se coloquen en la cámara cromatográfica inmediatamente después de aplicar las soluciones problema, sin esperar a que se evapore el disolvente de las muestras (por ejemplo, cloroformo). Para el análisis cuantitativo de las vitaminas D, las zonas que ocupan se localizan sobre la placa todavía húmeda, inmediatamente después del desarrollo del cromatograma. Se recogen las zonas sin pérdidas de tiempo y se eluye con cloroformo. Si se tiene en cuenta estas precauciones, la recuperación de las vitaminas D es cuantitativa.

#### **Localización de las manchas o bandas de vitamina D:**

Cuando se emplean cromatoplasmas de silica gel F<sub>254</sub> las bandas de vitaminas D de las muestras y de los cromatogramas de comparación pueden verse directamente a la luz ultravioleta (254 nm.) : aparecen como sombras violeta oscuro sobre un fondo fluorescente azul-verdoso. La sensibilidad es del orden del 0,5 µg. de vitamina D en las muestras aplicadas a la cromatoplasma. Si las placas se pulverizan con los reactivos adecuados, pueden detectarse cualitativamente incluso cantidades más pequeñas de vitamina D. Esta posibilidad es particularmente importante en el caso de los cromatogramas en banda, en los cuales la concentración de vitamina D presente es mucho menor que cuando la muestra se aplica en forma de gota o mancha circular.



## Vitamina E

Forma y color : aceite viscoso de color amarillo débil.

Punto de fusión: 2.5 a 3.5°.

Solubilidad: soluble en las grasas y en los disolventes de éstas.

Estabilidad: termostable, pero se oxida fácilmente y la destruyen los rayos ultravioletas.

Necesidades diarias: se estima el requerimiento diario en el adulto entre 10 y 15 mg. de  $\alpha$ -tocoferol. En la mujer embarazada o lactante se aconseja 20 mg., en el lactante 5 mg. y en niños mayores 8 mg.

### **Química:**

La vitamina E guarda químicamente relación con un grupo de compuestos llamados Tocoferoles. Los tocoferoles alfa, beta y gamma tienen actividad de vitamina E, pero el tocoferol alfa es el más potente. Los otros dos tocoferoles solo difieren en el número y posición de los grupos  $\text{CH}_3$  en el anillo aromático. El beta es un derivado 1,4-di- $\text{CH}_3$ , el gamma 1,2-di- $\text{CH}_3$ . La vitamina E es estable al calor, pero es destruida por agentes oxidantes y luz ultravioleta. El enranciamiento oxidativo de las grasas destruye rápidamente la potencia de la vitamina. *Ver Anexo II*

### **Bioquímica:**

Los tocoferoles son excelentes antioxidantes; evitan la oxidación en el cuerpo de varias sustancias, incluyendo ácidos grasos insaturados y vitamina A. Como antioxidante la vitamina E puede proteger las mitocondrias de la célula de una oxidación irreversible por peróxidos lípidos. También puede proteger el tejido pulmonar de lesión por oxidantes que existan en atmósferas muy contaminadas.

Es una vitamina liposoluble, que se almacena en el cuerpo durante breve tiempo no produciendo efectos tóxicos. Vitamina esencial en la curación y regeneración de todas las partes del cuerpo. Al ser antioxidante es preventiva del cáncer y enfermedades cardíacas. Esta vitamina es recomendada para la fertilidad, problemas de la menopausia, prevención de abortos, sofocos, durante el embarazo y posterior lactancia, en los casos de aparición de quistes fibroides en los pechos. Igualmente es aconsejable cuando se está tomando la píldora anticonceptiva o estrógeno. En los casos de intervenciones quirúrgicas es aconsejable tomarla antes y después, así como en quemaduras y cicatrización de heridas. Además de lo dicho, la vitamina E previene y ayuda en la recuperación de las cataratas. Los hipertensos también encontrarán gran ayuda en esta vitamina ya que ayuda a bajar la presión, eliminando así mismo el exceso de colesterol que se deposita en las paredes de las arterias.



Por lo demás, conocidos son los efectos que produce en el cuerpo humano, como la protección de sustancias contaminantes como el humo de los fumadores, retarda el envejecimiento de las células, alivia las migrañas y problemas visuales, enfermedades musculares, de la piel y del cabello, previene la distrofia muscular de los bebés durante el embarazo. Ayuda a proteger las membranas celulares, lipoproteínas, grasas y vitamina A contra la oxidación. Ayuda a proteger los glóbulos rojos. Protege corazón y sistema circulatorio. Problemas de Menstruación. Actividad enzimática y genética. Esta vitamina es aconsejable tomarla con Zinc con el fin de mantener los niveles de vitamina E en la sangre. Entre la ingesta de vitamina E y Hierro debe de transcurrir 8 horas. Las personas diabéticas, hipertiroidismo o reumatismo cardíaco no deberán tomar dosis elevadas. Se encuentra en Espirulina. Frutos secos, cacahuets, aceites naturales, algas, aceitunas, germen de trigo, espinacas, sésamo, lecitina de soya, yema de huevo, legumbres y arroz integral.

Esta vitamina tiene como función principal participar como antioxidante, es algo así como un escudo protector de las membranas de las células que hace que no envejezcan o se deterioren por los radicales libres que contienen oxígeno y que pueden resultar tóxicas y cancerígenas. La participación de la vitamina E como antioxidante es de suma importancia en la prevención de enfermedades como Isquemia cardiaca, toxemia durante el embarazo, tromboflebitis, fibrosos de seno y en traumas, donde existe una destrucción de células importantes.

La deficiencia de vitamina E puede ser por dos causas: por no consumir alimento alguno que la contenga o por mala absorción de las grasas. La vitamina E por ser una vitamina liposoluble, es decir, que se diluye en grasas, para su absorción en el intestino es necesario que se encuentren presentes las grasas.

El menor tiempo requerido no es la única ventaja que presenta la identificación cualitativa y la valoración cuantitativa de los tocoferoles mediante cromatografía en capa fina. La separación de los distintos tocoferoles es, así mismo, apreciablemente mejor.

### **Vitamina E natural:**

El D- $\alpha$ -tocoferol presente en la naturaleza se halla siempre acompañado, tanto en materiales animales como vegetales, de otros tocoferoles. Estos compuestos ópticamente activos difieren en el número y posición de los grupos metílicos en el anillo del cromano y también, según se ha descubierto en los últimos años, en la estructura de la cadena isoprénica lateral.



## **Identificación de la vitamina E:**

Los métodos normalmente empleados para el análisis cuantitativo de la vitamina E se basan directa o indirectamente en la facilidad de oxidación propia del  $\alpha$ -tocoferol libre. Los ésteres de tocoferilo, que se emplean casi exclusivamente en preparaciones farmacéuticas (por ejemplo, acetato o succinato de  $\alpha$ -tocoferilo), deben ser hidrolizados previamente. Dado que el  $\alpha$ -tocoferol libre es muy sensible a la luz y al oxígeno atmosférico, debe procederse con un especial cuidado tanto durante la hidrólisis de los ésteres de tocoferilo como en todas las operaciones analíticas necesarias para su determinación (por ejemplo, extracción, evaporación del disolvente, etc.). Los ensayos deben realizarse con la mayor rapidez posible.

## **VITAMINAS DEL GRUPO B:**

Este grupo de vitaminas tienen especial incidencia en la depresión. La tiamina ( $B_1$ ) mejora la actitud mental y mantiene el buen funcionamiento del sistema nervioso. La encontramos en la levadura de cerveza, salvado de trigo, leche y la mayoría de los vegetales. La piridoxina ( $B_6$ ) ayuda a mantener en buen estado el sistema nervioso. La encontramos en la levadura de cerveza, salvado de trigo, germen de trigo, melón, repollo, melaza, leche, huevos. La cianocobalamina ( $B_{12}$ ) aumenta la energía alivia la irritabilidad, mejorando la concentración y la memoria. La podemos encontrar en algas como la espirulina, los huevos, queso y levadura de cerveza. Favorece los factores digestivos. Su insuficiencia produce pereza intestinal y gástrica que va acompañada de un descenso en las secreciones del estómago y del páncreas.

Existen diversas perturbaciones que se oponen a la acción de la vitamina B. De esta suerte, son antagonistas la hiperproducción de sustancias residuales como la urea, ácido úrico, oxálico y láctico, al igual que algunos antibióticos. Así mismo cabe recordar que el alcohol, la galactosa y la lactosa son antivitaminas B. Esta vitamina es antiberibérica, antineurítica y evita el enflaquecimiento, siendo también soluble al agua. Esta vitamina resiste mucho más a la acción del calor, pues su poder de dilatación es muy grande, porque los aceites protegen su átomo, pero llega a un caso en que, si se excede de  $60^{\circ}\text{C}$  de calor, la vitamina B pierde un 50 % de su virtud medicinal. Se encuentra en albaricoque, apio, col, repollo crudo, higos chumbos, mandarinas, melocotón, moras, nísperos, peras, levadura de cerveza, sandías y uvas.



## Vitamina B<sub>1</sub>

Forma y color: polvo cristalino blanco.

Punto de fusión: 248 a 250°C, con descomposición.

Solubilidad: 1 gramo de clorhidrato de tiamina se disuelve en 1 ml. de agua, 100 ml. de alcohol de 95° y 20 ml. de glicerina. Prácticamente insoluble en bencina y éter.

Estabilidad: termostable en medio seco o ácido. No se altera por oxidación atmosférica.

Necesidades diarias: se recomienda suministrar 0.5 mg. de tiamina por cada 1000 calorías de alimentos ingeridos.

### **Química:**

La vitamina B<sub>1</sub> o tiamina, contiene un anillo de pirimidina y un anillo de tiazol con azufre.

La cocarboxilasa funciona en la descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico para formar aldehído acético y bióxido de carbono. El anillo tiazólico es el lugar activo de esta función; el átomo de hidrógeno se disocia como protón del carbono 2 y se forma un carbanión. La estructura de carbanión reacciona luego con el ácido pirúvico para formar CO<sub>2</sub> y aldehído acético. Las reacciones esenciales pueden delinear así:

Por lo tanto, la cocarboxilasa es esencial para convertir el ácido pirúvico en aldehído acético. Si esta reacción no tiene lugar con ritmo normal, debe acumularse ácido pirúvico en sangre y tejidos originando la neuritis, tan común en la deficiencia tiamínica. El pirofosfato de tiamina, TPP, sirve también como coenzima para enzimas como la oxidasa de alfa-cetoácidos, fosfacetolasa y transcetolasa.

La tiamina o vitamina B<sub>1</sub> actúa como catalizador en el metabolismo de los hidratos de carbono, permitiendo metabolizar el ácido pirúvico y haciendo que los hidratos de carbono liberen su energía, cabe mencionar que los tiazoles son catalizadores no demasiado buenos de las reacciones de condensación aciloínica, que se muestran a continuación, y de las de descarboxilación. Su efectividad depende de la presencia de un hidrógeno lábil sobre el C-2. El carácter nucleófilo del ion tiazolínico es similar al del ión cianuro, que también es un catalizador efectivo de la condensación aciloínica. La tiamina también participa en la síntesis de sustancias que regulan el sistema nervioso. La insuficiencia de tiamina produce polineuritis en los animales y beriberi en el hombre, que se caracteriza por debilidad muscular, inflamación del corazón y calambres en las piernas, y en casos graves, incluso ataque al corazón y muerte. *Ver Anexo II*



## Identificación:

La identificación de la vitamina B<sub>1</sub> y de sus ésteres fosfóricos es más sencilla y rápida empleando la cromatografía en capa fina que la cromatografía sobre papel. El procedimiento en capa fina debe emplearse de preferencia con fines cualitativos.

- *Tiamina*. Ejerce un papel importante como todas las del grupo B en la buena salud cardiovascular. En la Universidad de Talane se realizó un estudio en un grupo de ratas con esta vitamina, llegando a la conclusión de que tenía una acción favorable sobre la troficidad y la regulación del ritmo cardíaco.
- Se encuentra en acelgas, arroz cocido, copos de avena, harina integral de avena, cebada y centeno, espelta en grano, maíz, mijo en grano, trigo en grano, aceituna verde, acerola, aguacate, albaricoque, arándano, cerezas, ciruelas, chirimoya, dátil, frambuesa, fresa, granada, guayaba, higo, higo chumbo, kiwi, limón, mandarina, mango, manzana, melocotón, melón, membrillo, mora, naranja, palosanto, papaya, pasionaria, pera, piña, plátano, pomelo, sandía, saúco, uva, zarzamora, almendra, altramuz, anacardo, avellana, cacahuete, castaña, coco, girasol, nuez, piñón, pistacho, sésamo, acelga, ajo, alcachofa, apio, berenjena, berro de jardín, boniato, brécol, calabacín, calabaza, cebolla, cebollino, col china, col de Bruselas, col fermentada, coliflor, colinabo, col lombarda, col repollo, col rizada, diente de león, endibia, escarola, espárrago, espinaca, guisante, hinojo, judía verde, lechuga, llantén, maíz, mastuerzo, nabo, patata, pepino, perejil, pimiento, puerro (bulbo), rabanito, remolacha blanca, ruibardo, tomate, verdolaga, zanahoria, garbanzo, guisante amarillo, judía blanca, lenteja, soja, champiñón, cerveza.

## Vitamina B<sub>12</sub>

Forma y color: cristaliza en agujas de color rojo vivo.

Punto de fusión: los cristales se oscurecen de 210 a 220° con punto de fusión por debajo de 300°.

Solubilidad: soluble en alcohol e insoluble en acetona, cloroformo y éter. 1 gramo se disuelve en 80 ml. de agua.

Estabilidad: termostable en solución acuosa. Estabilidad máxima a un pH de 4.5 a 5. Inactivado por los ácidos y álcalis.



## Química:

La vitamina B<sub>12</sub> tiene una estructura química compleja, centrada alrededor de un átomo de cobalto unido con los cuatro átomos de nitrógeno de un tetrapirrol, con un nucleótido y con un grupo cianuro. Se llama cianocobalamina, ésta al igual que el ácido fólico, es útil para tratar anemias del hombre y los animales. Los extractos de hígado también contienen una hidroxicobalamina, en la cual el grupo cianuro ha sido substituido por un grupo hidroxilo *Ver Anexo II*. La forma de coenzima de la vitamina se presenta en la naturaleza y se conoce como **coenzima B<sub>12</sub>**. Es un compuesto inestable, en el cual el grupo CN o OH unido al átomo de cobalto en la vitamina B<sub>12</sub> es substituido por el nucleósido, adenosina, en esta forma:

## Coenzima B<sub>12</sub>:

La coenzima se convierte rápidamente en cianocobalamina o acuocobalamina hidroxicobalamina en presencia de cianuro o de luz. La coenzima B<sub>12</sub> funciona en varias importantes reacciones del metabolismo. Interviene en la isomerización de ácidos dicarboxílicos; por ejemplo, cataliza la conversión de ácido glutámico en ácido metilaspártico. La coenzima también ayuda a convertir glicoles y glicerol en aldehidos, a la biosíntesis de grupos metilo, y a la síntesis de nucleósidos.

- No existen frutas o verduras ricas en esta vitamina. Su carencia puede producir anemia. Los vegetarianos estrictos deberían tomar un complemento de vitamina B<sub>12</sub> o cereales enriquecidos con esta vitamina.
- La vitamina B<sub>12</sub> se encuentra en almejas, ostras, sardinas, yemas de huevo, truchas, salmón, bonito y carne de magra.

Al hablar específicamente de la vitamina B<sub>12</sub> se le identifica principalmente como efectiva en el tratamiento de la anemia perniciosa, en la cual aparecen los mismos signos clínicos que cuando existe anemia por deficiencia de hierro, como es la falta de color en la piel y cansancio. Esta vitamina es necesaria en cantidades ínfimas para la formación de nucleoproteínas, proteínas y glóbulos rojos y para el funcionamiento del sistema nervioso. El organismo humano tiene una reserva muy importante de vitamina B<sub>12</sub> que de no ingerirla a través de los alimentos por 5 ó 6 años, apenas se iniciarían a ver signos de deficiencia. Pero cualquier exceso consumido se excretará por la orina al igual que todas las vitaminas hidrosolubles.

El análisis de la vitamina B<sub>12</sub> por procedimientos físico-químicos es muy difícil debido a la concentración excepcionalmente baja –comparada con las otras vitaminas B- en que esta vitamina se halla en la naturaleza. En consecuencia, este tipo de análisis puede aplicarse únicamente a soluciones relativamente concentradas de vitamina B<sub>12</sub>, en preparaciones farmacéuticas.



## Vitamina C

Forma y color: Cristales blancos

Punto de fusión: 189 – 192°C con descomposición parcial

Solubilidad: 1 g de ácido ascórbico se disuelve en 3 ml de agua, 25ml de alcohol, 50ml alcohol absoluto, y 100 ml de glicerina. Es insoluble en bencina, cloroformo, éter y grasas.

Estabilidad: En estado seco es estable al aire, pero en solución acuosa se oxida, convirtiéndose en ácido dehidroascórbico, cuando se pone en contacto del aire. Si la oxidación continua pierde la acción antiescorbútica. La luz, álcalis, flavinas y algunos metales, en particular el hierro y el cobre, aceleran la oxidación destructiva. Por otra parte, en un medio ácido es relativamente estable, lo cual explica su durabilidad en las frutas y zumos cítricos.

Necesidades diarias: Las necesidades diarias de ácido ascórbico se estiman en 45 mg aproximadamente.

### **Química:**

El ácido ascórbico es un enediol de un ácido de azúcar hexosa. La forma reducida o enediol se oxida fácilmente para dar ácido dehidroascórbico. Ambas formas son biológicamente activas; sin embargo, el tratamiento con un álcali débil abre el anillo de óxido y produce una molécula inactiva. *Ver Anexo II*

### **Bioquímica:**

El ácido ascórbico puede funcionar en procesos de oxidación o reducción del cuerpo, ya que se trata de un agente poderosamente reductor. La corteza suprarrenal contiene cantidades apreciables de ácido ascórbico que puede intervenir en la síntesis de hormonas esteroides en la glándula suprarrenal. También intervienen en reacciones de hidroxilación y en el transporte de electrones en la región microsómica de la célula. La bioquímica de la deficiencia de ácido ascórbico en el cuerpo todavía no está completamente aclarada.

- Su carencia conduce a una sensación de fatiga y un sentimiento de tristeza. La podemos encontrar abundantemente en los kiwis, naranjas, pomelos, o mandarinas. La dosis mínima diaria es de 80 miligramos o lo que equivale a un kiwi al día o dos naranjas.
- Escasea en muchos alimentos, es de difícil aislamiento por su naturaleza alcalina (limones, naranjas, limas, pomelos, tomates, etc), y es esencialmente antiescorbútica. La escasez de esta vitamina provoca el escorbuto con faltas de apetito y hemorragias en las encías, en el estómago y los intestinos. Hay que vigilar, no obstante la toma excesiva de esta vitamina, pues ello provocaría una habituación del cuerpo y una mayor necesidad de ella. La vitamina C se encuentra en los alimentos de dos maneras: como ácido ascórbico y como ácido dehidroascórbico.



La Sociedad Alemana para la alimentación recomienda un aporte vitamínico de vitamina C de 75 mg/día. Los que toman carnes en conserva y bizcochos, bacalao y garbanzos secos no se saturan de esta vitamina. Todos los granos secos han perdido esta vitamina.

- Enfermedades debido a su ausencia: inflamación dolorosa de las articulaciones, salud precaria, mala nutrición, ritmo cardíaco irregular, respiración agitada, reducción de hemoglobina y de las secreciones glandulares de adrenalina, cataratas, hemorragias y el escorbuto sus primeros síntomas son falta de apetito, pérdida de peso, anemia irritabilidad, fatiga, problemas de piel, debilidad general; cuando la enfermedad progresa, se hinchan las encías, que sangran fácilmente y se pierden los dientes. Los huesos se vuelven frágiles y aparecen hemorragias bajo la piel y en las mucosas. El escorbuto intenso actualmente ya no se ve casi nunca, aunque se reconocen muchos casos de escorbuto sub-agudo o latente. Síntomas como irritación recidivante de las encías, úlceras en la boca, tendencia a la fatiga, falta de resistencia a las infecciones, dientes defectuosos y dolores articulares indican la presencia de escorbuto sub-agudo. Las enfermedades que controla: Esta vitamina favorece la salud en general ya que combate la acidosis.
- Su estabilidad: Esta vitamina es fácilmente destruida por el calor, la cocción, la baja temperatura y la oxidación.
- Provisiónamiento: Nuestro cuerpo no la acumula, por lo que debemos de ingerir a diario alimentos que la contengan.
- Abunda en el limón, naranja, cebolla, ajo, acerola, aguacate, albaricoque, arándano, cereza, ciruela, chirimoya, dátil, escaramujo, espinillo, espinillo, frambuesa, fresa, granada, grosella, guayaba, higo, higo chumbo, kiwi, mandarina, mango, manzana, melocotón, melón, membrillo, mora, nectarina, níspero, palosanto, papaya, pasionaria, pera, piña, plátano, pomelo, sandía, saúco, uva, zarzamora, almendra, altramuza, anacardo, avellana, cacahuete, castaña, coco, nuez, pistacho, acelga, ajo, alcachofa, apio, berenjena, berro de jardín, boniato, brécol, calabacín, calabaza, cebolla, cebollino, col china, col de Bruselas, col fermentada, coliflor, colinabo, col lombarda, col repollo, col rizada, diente de león, endibia, escarola, espárrago, espinaca, guisante, hinojo, judía verde, lechuga, llantén, maíz, mastuerzo, nabo, patata, pepino, perejil, pimiento, puerro (bulbo), rabanito, remolacha blanca, ruibarbo, tomate, verdolaga, zanahoria, garbanzo, guisante amarillo, judía blanca, soja, champiñón, jitomate.
- La ebullición prolongada y la adición de bicarbonato sódico para conservar el color de las verduras puede destruir del 70 al 90% de su ácido ascórbico.

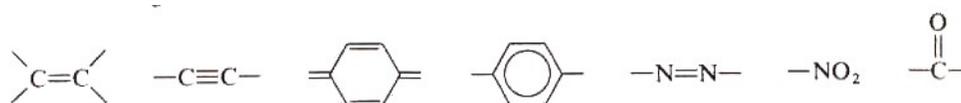
Los métodos clásicos para el análisis de vitamina C –algunos de los cuales se emplean todavía profusamente- se basan en su fuerte poder reductor. El método de cromatografía en capa fina no es apropiado para el análisis cuantitativo debido a que se pierde una cantidad muy apreciable de ácido ascórbico en la cromatoplaca.



## II. COLORIMETRÍA

La mayoría de los colores que ocurren en la naturaleza se deben a la absorción de ciertas longitudes de onda de luz visible por los compuestos orgánicos. Antes de que se desarrollaran las teorías de las transiciones electrónicas, se había observado que ciertos tipos de estructuras orgánicas tienden a originar color mientras que otras no lo hacen. Estas estructuras parciales necesarias para la aparición de color ( que son grupos insaturados capaces de experimentar transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  o  $n \rightarrow \pi^*$ ) fueron denominados **cromóforos**, término que viene del griego chroma, "color" y foros, "soportar".

Algunos cromóforos:



La presencia de algunos otros grupos da lugar a una intensificación del color. Estos grupos fueron denominados **auxocromos** (del griego auxanein, "aumentar"). Actualmente estos grupos auxocromos son entidades que no pueden experimentar transiciones  $\pi \rightarrow \pi^*$  pero sí transiciones de electrones  $n$ .

Algunos auxocromos:



Por lo tanto la colorimetría se refiere a la determinación de sustancias dependiendo de su habilidad de absorber luz visible. Es un método visual que se basa en la comparación de color de una solución de concentración no conocida contra una solución de color conocida.

En un método colorimétrico, uno o más reactivos que reaccionan con el analito de interés, se agregan a la solución de muestra para producir la reacción coloreada. La intensidad del color resultante es dependiente de la concentración de analito. El color producido es finalmente contrastado con colores estándares que representan diferentes concentraciones cromáticas a prueba de agua, las cuales indican diferentes concentraciones, la muestra debe entonces moverse a lo largo de la escala hasta constatar con el color apropiado.



### **III. SEPARACIONES CROMATOGRÁFICAS**

En general, los métodos para el análisis químico son, en el mejor de los casos, selectivos; pocos son verdaderamente específicos. En consecuencia, la separación del analito de las posibles interferencias es a menudo una etapa de vital importancia en los procedimientos analíticos. Hasta mediados del siglo XX, las separaciones analíticas se llevaban a cabo en su mayor parte por métodos clásicos como precipitación, destilación y extracción. Ahora, sin embargo, las separaciones analíticas se realizan, en la mayoría de los casos, por cromatografía y electroforesis, especialmente en el caso de mezclas complejas y multicomponentes.

La cromatografía es un poderoso método de separación que tiene aplicación en todas las ramas de la ciencia. Las aplicaciones de la cromatografía han aumentado en gran manera en los últimos cincuenta años, debido, no solo al desarrollo de nuevos y diversos tipos de técnicas cromatográficas, sino también a las necesidades crecientes, por parte de los científicos, de mejores métodos para la caracterización de mezclas complejas. El tremendo impacto de esos métodos en la ciencia se confirmó al otorgarse el Premio Nobel de 1952 a A. J.P. Martín y R.L.M. Synge por sus descubrimientos en este campo y 1937, 1972, los cuales se basaron en trabajos en los que la cromatografía tenía un papel vital, hoy por hoy, indudablemente, esta lista ha aumentado.

#### **Descripción general:**

La cromatografía agrupa un conjunto importante y diverso de métodos, que permite a los científicos separar componentes estrechamente relacionados en mezclas complejas, lo que en muchas ocasiones resulta imposible por otros medios. En todas las separaciones cromatográficas, la muestra se desplaza con una fase móvil, que puede ser un gas, un líquido o un flujo supercrítico. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria con la que es inmisible, y que se fija a una columna o a una superficie sólida. Las dos fases se eligen de tal forma, que los componentes de la muestra se distribuyen de modo distinto entre la fase móvil y la fase estacionaria. Aquellos componentes que son fuertemente retenidos por la fase estacionaria se mueven con rapidez. Como consecuencia de la distinta movilidad, los componentes de la muestra se separan en bandas o zonas discretas que pueden analizarse cualitativa y cuantitativamente.

#### **Clasificación de los métodos cromatográficos:**

Los métodos cromatográficos se pueden clasificar de dos modos distintos. El primero de ellos se basa en la forma en que las fases estacionaria y móvil por presión. En la cromatografía en columna, un tubo estrecho contiene la fase estacionaria a través de la cual hace pasar la fase móvil por presión.



En la cromatografía en plano, la fase estacionaria se fija sobre una placa plana o a los intersticios de un papel; en este caso la fase móvil se desplaza a través de la fase estacionaria por capilaridad o por gravedad.

Los equilibrios en los que se basan los dos tipos de cromatografía son idénticos, y que la teoría desarrollada para la cromatografía en columna se adapta también fácilmente a la cromatografía en plano.

Una clasificación más fundamental de los métodos cromatográficos se basa en el tipo de fase móvil y estacionaria, y en la clase de equilibrios implicados en la transferencia de los solutos entre las fases.

### **Cromatografía en capa fina:**

Los métodos de cromatografía en plano incluyen la cromatografía en capa fina (TLC), la cromatografía en papel (PC), y la electrocromatografía (EC). En todos los casos se emplea una capa plana y relativamente delgada de un material que a la vez es el soporte, o bien que recubre una superficie de vidrio, plástico o metálica. La fase móvil se mueve a través de la fase estacionaria por capilaridad, a veces ayudada por gravedad o por aplicación de un potencial eléctrico. La cromatografía en plano en algunas ocasiones se denomina cromatografía bidimensional, aunque esta descripción no es estrictamente correcta puesto que la fase estacionaria tiene un grosor definido.

En la actualidad, la cromatografía en plano se centra en la técnica de la capa fina, que es más sensible que su alternativa en papel.

### **Proceso de adsorción:**

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

### **Adsorbentes:**

Los adsorbentes más utilizados en cromatografía de capa fina son:

- Sílica gel (se utiliza en el 80% de las separaciones).
- Óxido de aluminio o Alúmina (ácida, neutra o básica).
- Tierra Silícea o Kieselguhr.
- Celulosa (nativa o micro-cristalina).
- Poliamidas.



Estos adsorbentes deben tener las siguientes características:

- Tamaño de partícula.
- Volumen de poro.
- Diámetro de poro.
- Área superficial.
- Homogeneidad.
- Pureza.

#### **Elección del disolvente:**

El disolvente se elige según sea la separación: reparto, adsorción o de intercambio iónico, la naturaleza de las sustancias a separar, la naturaleza del material de relleno.

Los disolventes empleados en la cromatografía de reparto son similares a los que se usan en la cromatografía en papel. Para las separaciones por adsorción es fundamental que los disolventes sean puros, porque de lo contrario las impurezas podrán alterar el curso completo del desarrollo.

Si el adsorbente es de tipo gel de sílice o alúmina hay que considerar que entre más polar es la sustancia más intensa es la adsorción. Se comienza trabajando con los solventes de baja polaridad y se va incrementando si es necesario. Las separaciones basadas en el intercambio iónico, se realizan normalmente pasando la muestra en solución acuosa por una columna que contiene una resina de intercambio iónico.

En este tipo de cromatografía los componentes se adsorben por fuerzas electrostáticas. El disolvente está contenido por soluciones acuosas con buffer en las que se puede variar el pH o la concentración salina para conseguir una adsorción selectiva.

#### **Cámaras para desarrollo:**

Existen varios tipos de cámaras:

- Normal.
- Doble compartimiento.
- Sándwich.
- Horizontal.
- Vario KS.



### **Detección o visualización:**

Si la muestra (mancha) no es coloreada se requiere de métodos que nos permitan visualizar el (los) componente (s) presente (s). También se conoce este procedimiento como revelado.

Estos métodos son:

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

### **Evaluación de un cromatograma de capa fina:**

Análisis cualitativo:

- Medida de R<sub>f</sub> (distancia recorrida por la sustancia entre la distancia recorrida por el solvente).
- Comparación visual de color / intensidad.
- Propiedades UV / IR / MS / NMR.

### **Campo de aplicación de la cromatografía en capa fina:**

Desde un punto de vista teórico, los tipos de fases móviles y estacionarias, así como las aplicaciones de cromatografía en capa fina son muy similares a las de la cromatografía de líquidos en columna. De hecho, una importante aplicación de la cromatografía en capa fina, y la razón por la que se incluye aquí, es la de servir de guía para el desarrollo de las condiciones óptimas para realizar separaciones por cromatografía de líquidos en columna. Las ventajas de seguir este procedimiento son la rapidez y el bajo costo de los ensayos experimentales en capa fina. De hecho, algunos cromatografistas son de la opinión de que los ensayos en capa fina deberían preceder siempre al uso de la columna.

Además de su aplicación al desarrollo de métodos cromatográficos en columna, la cromatografía en capa fina se ha convertido en la herramienta de batalla de la industria farmacéutica para todos los controles importantes de pureza del producto. También ha encontrado un amplio uso en los laboratorios clínicos y es la piedra angular de muchos estudios bioquímicos y biológicos. Por último, encuentra una extensa aplicación en los laboratorios industriales. Como consecuencia de las muchas y diversas áreas de aplicación, se ha estimado que al menos se realizan tantos análisis por cromatografía en capa fina como cromatografía de líquidos de alta eficacia.



## **Cómo se realizan las separaciones en capa fina:**

Las separaciones en capa fina características se realizan en placas de vidrio las cuales se recubren con una capa delgada y adherente de partículas finamente divididas; ésta capa constituye la fase estacionaria. Las partículas son semejantes a las descritas cuando se ha tratado de la cromatografía en columna de adsorción, de reparto en fase normal y en fase inversa, e intercambio iónico y de exclusión por tamaño. Las fases móviles también son similares a las empleadas en las cromatografía de líquidos de alta eficacia en columna.

### **Placas de capa fina:**

Los tamaños comunes de la placa en centímetros son 5 x 20, 10 x 20, y 20 x 20. Las placas comerciales se presentan en dos categorías: La convencional y la de alta eficacia. Las primeras tienen capas más delgadas (de 200 a 250  $\mu\text{m}$ ) de partículas que tienen un tamaño nominal de partícula de 20  $\mu\text{m}$  o más.

Las placas de alta eficacia por lo general tienen películas de unos 100  $\mu\text{m}$  de espesor, y un diámetro de partícula de 5  $\mu\text{m}$  o menos. Las placas de alta eficacia, como su nombre indica, permiten mejores separaciones y en menos tiempo. Así, una placa convencional presenta por lo común unos 2,000 platos teóricos en 3 cm y con 10 min de desarrollo. Las placas de alta eficacia tienen la desventaja de tener una significativamente menor capacidad de carga.

### **Aplicación de la muestra:**

La aplicación de la muestra es tal vez el aspecto más crítico de la cromatografía en capa fina, especialmente cuando se trata de medidas cuantitativas. Por lo general, se aplica una disolución de la muestra del 0,01 al 0,1 por 100, como una mancha, a 1 o 2 cm del extremo de la placa. Para una separación de mayor eficacia, la mancha debería tener un diámetro mínimo aproximadamente 5 mm para una aplicación cualitativa y menor para el análisis cuantitativo-. En el caso de disoluciones diluidas, se realizan tres o cuatro aplicaciones superpuestas secando la zona entre aplicación y aplicación.

La aplicación manual de las muestras se realiza por contacto entre la placa y un capilar que contiene la muestra , o utilizando una jeringa hipodérmica. Comercialmente se ofrecen varios aplicadores mecánicos que mejoran la precisión y exactitud de la aplicación de la muestra. *Ver Figuras 1, 2 y 3.*

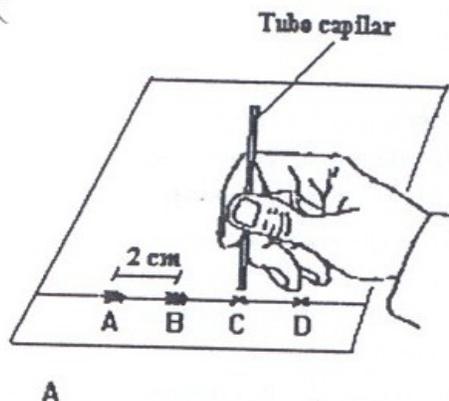


Figura 1

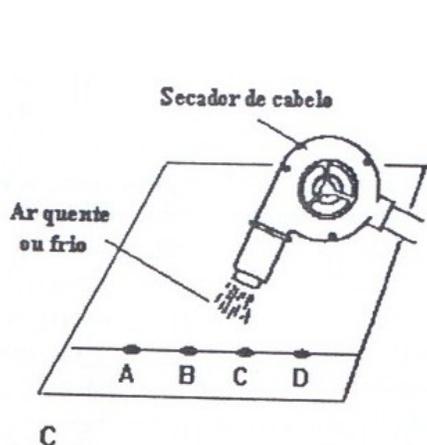


Figura 2

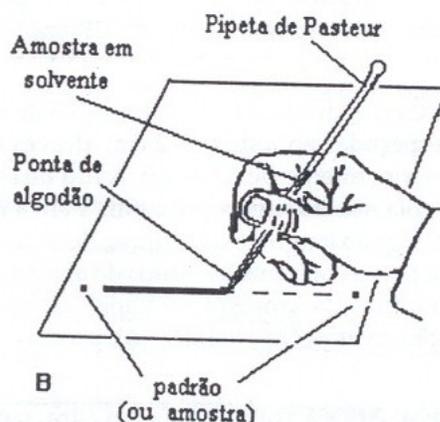


Figura 3

### Desarrollo de la placa:

El desarrollo de la placa es un proceso análogo a la elusión en la cromatografía de líquidos, en el que la muestra es transportada por la fase móvil a través de la fase estacionaria. La forma más común de desarrollar una placa consiste en depositar una gota de la muestra cerca de uno de los extremos de la placa, y marcar su posición con un lápiz. Una vez se ha evaporado el disolvente en el que estaba disuelta la muestra, se coloca la placa en un recipiente cerrado y saturado con los vapores del disolvente con el que se efectuará el desarrollo. Uno de los extremos de la placa se introduce en el eluyente procurando evitar el contacto directo de éste con la muestra. El eluyente asciende por la placa gracias al efecto de capilaridad ejercido entre las finas partículas. A medida que el eluyente se desplaza pasa por el punto de aplicación de la muestra, la disuelve y la arrastra por la placa distribuyéndose entre el disolvente que se desplaza y la fase estacionaria. Después que el disolvente ha pasado a través de la mitad o las dos terceras partes de la longitud de la placa, se retira ésta del recipiente y se seca. Las posiciones de los componentes de la muestra se determinan por cualquiera de los procedimientos habituales. Ver Figura 4

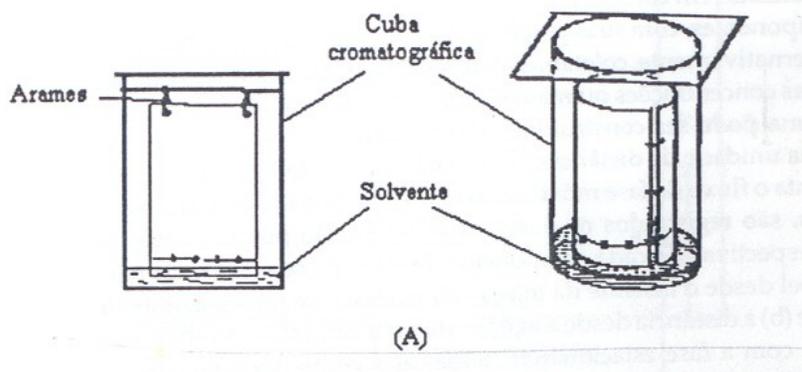


Figura 4

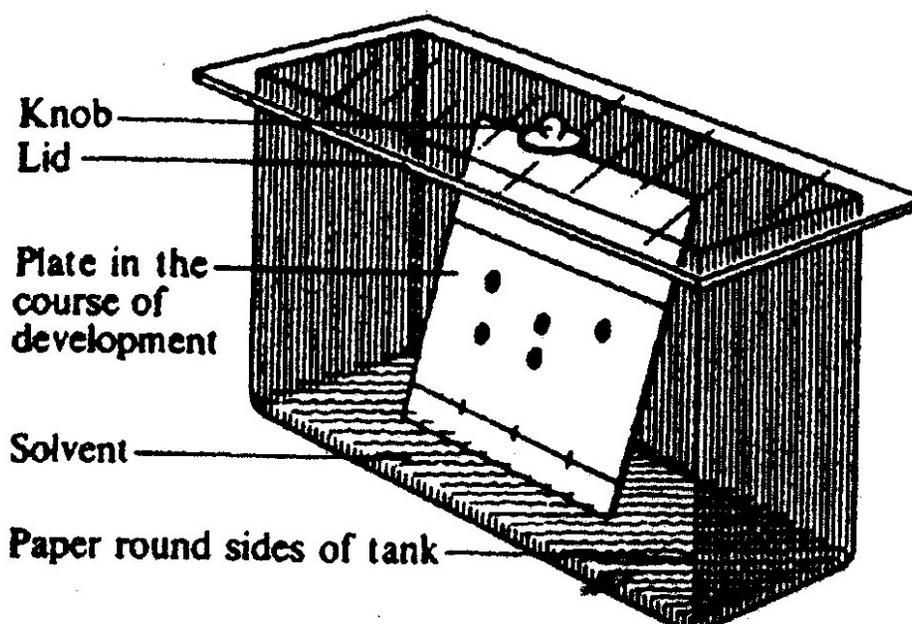


Figura 5

#### Localización de los analitos en la placa:

Existen diversos procedimientos para localizar los componentes de la muestra después de la separación. Dos de los métodos que ordinariamente se utilizan con la mayoría de las mezclas de sustancias orgánicas, consisten en nebulizar sobre la placa una disolución de yodo o de ácido sulfúrico, ya que ambos reaccionan con los compuestos orgánicos para dar productos oscuros. También se utilizan otros reactivos específicos (como la ninhidrina) para localizar las especies separadas.



Otro método de detección se basa en la incorporación de un material fluorescente a la fase estacionaria. Una vez ha finalizado el desarrollo, se examina la placa bajo una luz ultravioleta. Los componentes de la muestra amortiguan la fluorescencia del material de tal forma que, toda la placa exhibe fluorescencia excepto los lugares donde se encuentran los componentes de la muestra, no fluorescentes. Ver Figura 5

En muchas ocasiones, las manchas reales sobre una placa presentan colas, lo que originan manchas que no son tan simétricas.

## **APLICACIONES DE LA CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA.**

### **Cromatografía en capa fina cualitativa:**

Por lo general, los datos de un solo cromatograma no proporcionan la información suficiente para poder identificar las distintas especies presentes en una mezcla, debido a la variabilidad de los valores de  $R_f$  con el tamaño de la muestra, la placa de capa fina, y las condiciones existentes durante el desarrollo. Además, siempre existe la posibilidad de que dos solutos bastante diferentes puedan presentar valores de  $R_f$  idénticos o casi idénticos en unas condiciones determinadas.

### **Variables que afectan a los $R_f$ .**

En el mejor de los casos, los valores de  $R_f$  se pueden reproducir con dos cifras significativas, aunque con varias placas, una sola cifra significativa da una idea mas real de la precisión.

Entre los factores mas importantes que determinan la magnitud del  $R_f$  se incluyen el grosor de la fase estacionaria, la humedad que contienen las fases móvil y estacionaria, la temperatura, el grado de saturación de la cámara de desarrollo con los vapores de la fase móvil, y el tamaño de muestra. En general, no es factible un control absoluto de estas variables. Sin embargo, se puede conseguir un adecuado control de sus efectos utilizando un factor de retención relativo  $R_x$  en lugar del  $R_f$ , donde:

$$R_x = \frac{\text{Distancia recorrida por el analito}}{\text{Distancia recorrida por una sustancia de referencia}}$$



### **Uso de patrones.**

Uno de los métodos que a menudo proporciona una identificación experimental de los componentes de la muestra, consiste en aplicar a la placa la muestra desconocida y disoluciones de muestras purificadas de las especies que probablemente pueden estar presentes en la muestra desconocida. La coincidencia entre los valores  $R_f$  de alguna de las manchas de la muestra desconocida y el de algunos de los estándares proporciona una gran evidencia para la identificación de uno de los componentes de la muestra. Siempre es necesario, sin embargo, una confirmación. Un ensayo de confirmación adecuado consiste en repetir el experimento con diferentes fases móviles y estacionarias, y también con distintos reactivos de revelado.

### **Métodos de elusión.**

La identificación de los analitos separados también se puede confirmar o establecer raspando y disolviendo la mancha. En este caso, se raspa la zona de la placa que contiene el analito mediante una espátula o navaja, y se recoge el sólido sobre un papel satinado. A continuación se transfiere a un tubo de ensayo u otro recipiente, donde el analito se disuelve con un disolvente adecuado y se separa de la fase estacionaria por centrifugación o filtración. La identificación se realiza mediante técnicas como la espectrometría de masas, la resonancia magnética nuclear o la espectroscopia de absorción en infrarrojo.

### **Cromatografía en plano bidimensional.**

La muestra se coloca en una de las esquinas de una placa cuadrada y se realiza el desarrollo en dirección ascendente con el primer disolvente. A continuación se elimina este disolvente por evaporación, y se gira la placa 90 grados, realizando ahora el desarrollo ascendente con el otro disolvente.



## IV. TAXONOMÍA DE LA UÑA DE GATO

**División XVII:** Angiospermas.

**Clase:** Dicotiledónea.

**Subclase:** Gentianales.

**Familia:** Rubiaceae.

**Género:** *Uncaria*.

**Especie:** *tomentosa*

**Nombres comunes:** Nicaragua: Uña de gato, Rangayo.  
Perú: Uña de gato, tua juncara (Chocó) bejuco de agua.  
Ecuador: Deixa, garabato amarillo, garabato colorado, garra gavián, jipotatsa, kung kukjaqui, micho-mentis, paotati-mosha, samento, toroñ, tsachik, uncucha, unganangui, Uña de gato, uña de gato de altura.  
Panamá: Rangayo (Valle de Changuinola)  
Colombia: Uña de gato.  
Bolivia: Uña de gato.

**Número de especies:** 60

**Partes utilizadas:** principalmente la corteza y en menor medida la raíz y las hojas.

### **Descripción botánica:**

El rangayo o uña de gato es un bejuco perenne formado por entre nudos de 7-8 cm de largo, altura: hasta 20 m, tipo: trepador; en donde emite o segrega un par de espinas similares a la uña de gato, también emite dos hojas ubicadas de forma alternas que son oblongas de la base de la espina, también surgen sus flores que al secarse sueltan las semillas. Es un bejuco que tiene una corteza gruesa con hendiduras finas, por dentro es de color rojizo. La madera del bejuco es de color blanco y tiene en su centro un corcho del mismo color de la corteza. Pueden identificarse sobre los charrales que sobresalen como una palma abierta mostrando sus ramas de hojas y espinas.

### **Aspecto general:**

Es una liana que se encuentra en bosques, en las copas de los árboles que tienen de 20 a 30 metros de altura; la planta presenta más de 40 metros de longitud.



**La raíz:** La raíz es leñosa y gran parte de ella no profundiza. **El tallo:** El tallo también es leñoso y se encuentra sobre la superficie del suelo. Puede alcanzar de 20 a 40 centímetros de diámetro. **Corteza:** De color marrón, fisurado. La parte interna fibrosa con un polvo característico de color marrón -rojizo cuando está seca. **Secreción:** Presenta secreciones acuosas de consistencia fluida y sabor ligeramente amargo. **Ramas terminales:** Las ramas terminales presentan sección cuadrangular, con médula interior color verde - amarillento, con pelos y hojitas en forma de lanza. Las ramas más adultas tienen un par de espinas curvo - rectas, no retorcidas y puntiagudas, de consistencia leñosa. **Hojas:** Las hojas son simples y opuestas, todas por lo general orientadas en un mismo plano; borde en general entero; la punta aguda, raramente se prolonga; base redonda y/o en forma de corazón; consistencia membranosa; de color verde opaco por el revés y verde pálido por el envés, en esta zona se observa la presencia de pequeñísimos y finos vellos, llamados tomentos, que se disponen densamente en toda su extensión y se cruzan o se entremezclan entre sí, otras veces aparecen sólo en las venas o nervaduras de abajo. De esta característica proviene el nombre científico de la especie: ***Uncaria tomentosa***. Presenta unas hojitas muy pequeñas, en forma de delta, entre los tallitos que sostienen a la hoja (pecíolos), llamadas estipulas. **Inflorescencia:** Las flores se presentan en inflorescencias que tienen forma de cabezuela, cada cabezuela presenta un diámetro de 1.5 a 2.8 centímetros. La inflorescencia puede llegar a medir desde 7 hasta 18 centímetros de largo. **Flor:** Las flores son pequeñas, hermafroditas, en forma de tubo, de color cremoso o amarillo, con pelos pequeños densamente poblados. Presenta una estructura tubular que se prolonga desde la base de la flor, donde coinciden el cáliz y la corola. Los estambres se encuentran soldados en la corola. **Fruto:** El fruto es seco formado por 2 valvas, dehiscente, con muchas semillas, generalmente de forma elipsoide, de 5 a 9 milímetros de longitud y 2 a 6 milímetros de diámetro, con el cáliz persistente y acrecente. En las valvas secas se puede observar los pelos persistentes de color blanco. **Semillas:** Las semillas son fusiformes, con alas de consistencia membranosa, un extremo es lineal y el otro profundamente partido; de 2.5 a 4 milímetros de longitud y de 0.5 a 0.8 milímetros de ancho.

### **Especies vegetales que conviven con la uña de gato:**

La uña de gato naturalmente se encuentra asociada con los siguientes árboles: Huayruro (*Ormosia* sp.), marupá (*Simarouba amara*), lupuna (*Chorisia* sp.), shihuahuaco (*Dypteris alata*), tacho (*Terminalia oblonga*), cumala amarilla (*Iryanthera* sp.), banderilla roja (*Jacaranda* sp.), cedro (*Cedrela odorata*), caoba (*Swietenia macrophlla*), roble amarillo (*Terminalia tarapotensis*), tornillo (*Cedrelinga cateniformis*), capirona (*Calycophyllum spruceanum*), balata (*Pouteria* sp.), zapotillo blanco (*Quararibea* sp.), entre las más importantes.



## **Propagación de la uña de gato:**

La uña de gato puede reproducirse de tres formas: semillas, estacas y micropropagación.

### **Por semillas:**

Por el tamaño y la forma alada de las semillas, que dificulta las labores de recolección, es necesario prevenir con tiempo la época de cosecha de frutos que generalmente debe ser cuando estos presentan una coloración marrón oscuro. Los frutos tienen una apertura violenta de las valvas, por lo que es preferible envolverlas para evitar que estos se abran y se pierdan las semillas. La cosecha debe realizarse en días sombríos y se realiza trepando los árboles o arbustos que sostienen a la liana, a veces se utiliza, para facilitar el trabajo, tijeras telescópicas. Las semillas pueden ser almacenadas envueltas en papel periódico y colocadas en bolsas de plástico o cajas de cartón, en lugares secos y oscuros, a temperaturas menores de 25 grados centígrados, logrando mantener la viabilidad de acuerdo con la siguiente información: . a 10 días 65 - 84 por ciento. . a 30 días 63 - 83 por ciento. . a 60 días 61 - 73 por ciento. . a 90 días 58 - 67 por ciento. . a 120 días 47- 58 por ciento.

Antes de iniciar el almácigo, las semillas de uña de gato deben ser sometidas a un tratamiento pregerminativo de remojo con una solución de agua mezclada con CUPRAVIT o TECTO 60 (0.1 gramos de TECTO 60 en un litro de agua), a temperatura ambiente. En esa solución se introducen las semillas a una equivalencia de 5.000 - 7.000 semillas por litro (1 gramo de semillas por un litro de solución), alcanzándose de 65 a 85 por ciento de germinación en el lapso de 10 a 25 días de aplicado el tratamiento. La remoción de las semillas de la solución debe realizarse cuando éstas queden liberadas de la cubierta seminal. Las plántalas con cotiledones y radícula liberada deben ser trasplantadas cuidadosamente a las camas de almácigo. Las camas de almácigo deben tener un sustrato conformado por una mezcla 1:1 de arena gruesa con la tierra agrícola.

En general las plántalas empiezan a erguirse a partir del cuarto al quinto día; sin embargo, deben permanecer allí durante 2 meses hasta tener un promedio de 2 a 3 centímetros de longitud (de 3 a 4 pares de hojitas), luego se las traslada a camas de repique. En la cama de repique los plantones deberán permanecer por espacio de tres meses hasta alcanzar una altura promedio de 25 a 30 centímetros de altura, edad en la cual están aptos para llevarlos a campo definitivo.



### **Por estacas:**

Para la propagación de la uña de gato por estaca se deben considerar los siguientes factores: material por propagar, tipo de corte, diámetro de corte, longitud de la estaca, época de recolección, tipo de sustrato que favorezca el enraizamiento, entre otros. Se seleccionan las ramas de donde se obtendrán las estacas, procurando que tengan una corteza bien lignificada, con un diámetro mínimo de 2.5 centímetros, de 25 a 30 centímetros de longitud, con dos yemas como mínimo.

Una vez que se obtienen las estacas se las lleva a un microambiente saturado de humedad, donde el sustrato deberá estar compuesto por 100 por ciento de humus natural, condiciones que favorecen el enraizamiento y el brote de la plántala de uña de gato. En ese ambiente deberán permanecer de dos a tres meses, aunque la brotación foliar y el enraizamiento empezarán entre los 15 y 20 días. Por lo general se obtiene encima del 72 por ciento de prendimiento. Para realizar la propagación vegetativa de la uña de gato se deben tomar en cuenta las siguientes recomendaciones.

- Medio ambiente controlado:
- Temperatura del aire permanentemente fresca.
- Humedad saturada en el aire y sustrato.
- Luz suficiente para el proceso fotosintético de las primeras hojitas.
- Sustrato estéril con buen drenaje y de pH neutro.
- Tipo de corte:

El corte debe ser exacto, evitando heridas y rasgaduras en la corteza que dificultan la formación de callo, de donde se originan las raíces. Con una sierra se obtienen mejores cortes.

- Época de obtención de estacas:

La mejor época de obtención de estacas en Perú puede ser exactamente al finalizar el invierno, ya que en la primavera la uña de gato se desarrolla más rápido. La determinación de la mejor época de obtención de estacas, puede hacerse en función del calendario fenológico de la uña de gato, la que se elaborará para cada zona, como se muestra en la siguiente tabla.

- Tamaño de la estaca.

El mejor tamaño de las estacas está en función del número de yemas, las que deben ser de dos como mínimo, en el caso de la uña de gato debe ser de 25 a 30 centímetros.



### **Micropropagación:**

La micropropagación es un método que requiere condiciones especiales de laboratorio para multiplicar las partes vegetativas; sin embargo, se pueden obtener enormes cantidades de plántones para campañas masivas de cultivo de la especie. La micropropagación consiste en cultivar órganos vegetales o fragmentos de tejidos en un medio sólido o líquido que contienen una solución de sales minerales, azúcar, vitaminas y hormonas vegetales. El cultivo se desarrolla en condiciones rigurosas de asepsia para evitar la proliferación de poblaciones de hongos o bacterias.

Existen tres tipos de micropropagación: Cultivos de órganos, cultivos de tejidos y cultivo de células. Actualmente este tipo de propagación sólo se realiza a nivel de investigación. Y algunos investigadores como DOMINGUEZ (1997) han logrado desarrollar un medio de cultivo adecuado que permite obtener plántulas completas y vigorosas que, a su vez, pueden tener dos destinos: La multiplicación masiva a través de subcultivos y la aclimatación para su instalación y desarrollo en el campo.

### **Forma de plantación:**

Para plantar la uña de gato se realizará la limpieza del terreno con la finalidad de obtener las condiciones favorables, evitando competidores por luz, agua y sustrato, para su normal desarrollo. Luego de la limpieza se definen los puntos donde se abrirán los hoyos, que tendrán un distanciamiento de 5 X 5 metros, tanto en campo abierto como dentro del bosque. Los hoyos se hacen con la finalidad de preparar el suelo para que las raíces de las plántulas de uña de gato puedan penetrarlos sin dificultad, así como facilitar la infiltración del agua de lluvia.

Por lo general se usa el mismo suelo para rellenar el hoyo, no obstante, se puede incorporar 10 por ciento de materia orgánica o compuestos para mejorar las características del sustrato. Los hoyos tendrán un tamaño de 30 x 30 x 30 centímetros, para lo cual se utilizará pico, barreta, zapapico y palas rectas. En caso de que la plantación se realice dentro del bosque se procura hacerlo al lado del tallo de un árbol para que pueda trepar.

### **Manejo:**

El manejo de la uña de gato depende de si se trabaja con la regeneración natural del bosque o con plántones propagados en viveros.



### **Manejo en bosques:**

Es posible trabajar con la regeneración natural de la uña de gato, se puede inducir y hacer germinar un aceptable número de plántalas, si se aprovecha eficientemente la capacidad dehiscente de los frutos y la facilidad del transporte de las semillas por el viento. Cuando la planta madre entra en fase de dehiscencia de los frutos se debe realizar la limpieza periférica y circular a 20 metros del pie del bejuco o árbol sostén. En dicha área se abren fajas de 1 metro de ancho por 5 metros largo. Cada faja separada por 4 metros una de la otra a manera de satélite. Todo rastrojo verde, producto del roce y tumba, se retira de las áreas abiertas dejando únicamente la materia orgánica descompuesta, sustrato de germinación de las semillas. Al cabo de 30 días se debe realizar una limpieza manual de la maleza en el área principal y las áreas satélites para identificar la regeneración natural. La regeneración se identifica por cuatro hojitas de un tamaño de 2 a 4 milímetros de altura a 30 días de germinadas, verdes y con palitos menudos llamados tomentos. La uña de gato presenta cuatro hojitas ligeramente aovadas y con la haz opaco. Cuando las plántalas tengan una altura de 5 a 10 centímetros debe procederse a repicar en bolsas de vivero.

La cosecha del bejuco se debe realizar efectuando un corte a 30 centímetros de altura de la base; es decir, dejando un tocón que permita a la planta rebrotar. Es importante que el aprovechamiento de la corteza se realice después de la época de fructificación para que exista mayor probabilidad de obtener plantas de regeneración natural. El corte del tocón debe ser en forma biselada y debe cubrirse con materia orgánica natural, tierra común para disminuir la pérdida de fluidos del tallo - tocón. Los esquejes o estacas se preparan de las ramas y se siembran al pie de árboles para repoblar la especie aprovechada. Esta acción debe ser una norma para los extractores, técnicos y extensionistas si se pretende según aprovechando este recurso en forma permanente y sostenible. La parte comercial de la uña de gato es la corteza del tallo y la raíz; sin embargo, por razones de conservación y dificultades en la cosecha no se recomienda el aprovechamiento de las raíces. El manejo del bosque, en general estará en función del manejo de los rebrotes, propagación de estacas o manejo de la regeneración natural, así como la aplicación de algunas actividades culturales que permitan el incremento de su densidad.

### **Manejo en plantaciones:**

Como la uña de gato requiere cierto grado de sombra para crecer se recomienda hacer plantaciones en fajas de enriquecimiento dentro de bosques secundarios, con excelentes resultados en comparación con plantaciones a campos abiertos.



### **Ubicación geográfica:**

Las especies del género **Uncaria** son pantropicales. Según algunos autores, alrededor de 39 especies de éste género se hallan difundidas principalmente en Asia y África. En Perú, se ha informado la presencia de dos especies: **Uncaria tomentosa** y **Uncaria guianensis**. La planta es ubicada en el trópico húmedo, cerca de zonas bajas de suelos muy fértiles y asociada con árboles de los que necesitan para subir y establecerse.

Esta especie la podemos encontrar desde los 75 a los 1.118 metros sobre el nivel del mar, desarrollándose en zonas que presentan las siguientes condiciones climáticas: Temperatura media anual mínima de 17 grados centígrados y media anual máxima de 25.7 grados centígrados. Promedio total de precipitación anual de 1.200 a 6.000 milímetros. La uña de gato se encuentra en lugares muy variados, desde terrenos inundados temporalmente en crecientes de los ríos amazónicos hasta terrenos altos y colinas con suelos fértiles, referentemente orgánicos y de buen drenaje.

En Nicaragua suele encontrarse en ecosistemas ribereños y lacustrinos, en bosques primarios y secundarios entre los cero metros hasta los seiscientos metros sobre el nivel del mar, tal es el caso del municipio de San Carlos, departamento de Río San Juan. Es típica de bosques vírgenes a ligeramente intervenidos, donde se encuentran árboles muy desarrollados y con grandes diámetros, posiblemente muy viejos, donde solo hubo extracción selectiva de sus especies maderables comerciales, muerte natural u otras causas, que solo permiten una escasa entrada de rayos solares hasta la superficie del suelo, circunstancia que es aprovechada por las semillas para germinar, siendo esta planta heliófita durable.

### **Química de la uña de gato:**

Químicamente contiene: vitaminas liposolubles (A y D) e hidrosolubles (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> y C), ácido quinóvico, ácido glicosídico, pro antosianidinas, polifenoles, triterpenos, Isomitrafilina, ácido dianoico, especiofilina, rincofilina, isopteropodina, **Uncaria** f, pteropodina, mitrafilina,  $\beta$ -citosterol, estigmasterol y campesterol.

### **Aprovechamiento y comercialización**

El aprovechamiento de la corteza del tallo de la uña de gato debe realizarse en forma racional y cuando la planta haya adquirido su madurez, siendo el ciclo silvicultural de tres años, cuando proviene de estacas, y de seis años, cuando la propagación es de semillas. La forma correcta de cosechar la planta es cortar el tallo o tronco a 30 centímetros de la base.



Luego se hala el resto de la planta para poder aprovechar toda su longitud que cuelga de los árboles. Cuando se corta el tallo de la uña de gato se debe halar la liana hasta descolgarla totalmente. Por ningún motivo se debe cortar por debajo de los 30 centímetros de longitud, y menos sacar la raíz, porque provocaría la muerte de la planta. Para facilitar el aprovechamiento de la corteza, el embalaje y su carga dentro del bosque el tallo se debe cortar en segmentos de 1 metro.

La época de cosecha en general es desde la segunda quincena de abril hasta la primera quincena del mes de diciembre, en el tiempo de lluvia, las plantas por lo general están creciendo y no deben ser aprovechadas, además resucitarían más difíciles el secado y el transporte.

La técnica más práctica para extraer la corteza consiste en golpear el extremo de un segmento con el extremo de otro hasta lograr que la corteza de ambos se despegue; en dichas condiciones se levantan tiras de corteza hacia arriba cuidando que la corteza se desprenda longitudinalmente en el segmento. Previa a esta operación es necesario limpiar la corteza externa normalmente acompañada con musgos de color negro, para ello se utiliza un cuchillo. La corteza limpia debe ser secada bajo sombra con ventilación artificial, secadores solares y en ambientes abiertos bajo techo. No se recomienda el secado al sol ni con estufas u hornos por la posibilidad que se volatilicen algunos componentes químicos. Después del secado se realiza una limpieza de las tiras de corteza donde se eliminan los residuos, fibras y hongos que pudiera presentar la cubierta externa. Luego se realiza el picado, que es una actividad opcional, que consiste en cortar la corteza en longitudes variables de 10 a 20 centímetros. La corteza completamente seca y picada de uña de gato sin restos externos ni hongos se empaca para su comercialización en bolsas plásticas. Esta forma de embalaje previene que la corteza adquiera humedad durante el transporte y proliferen hongos.

Para su comercialización al exterior se recomienda moler la corteza, esto facilita la manipulación y transporte dándole un mayor valor agregado. El productor de uña de gato puede vender la corteza a acopladores de empresas farmacológicas o agroindustriales, casas naturistas, herboristerías, farmacias, autoservicios, bodegas o directamente al público.

### **Conservación de la uña de gato:**

En cuanto a su estado de conservación esta especie se encuentra propensa a desaparecer, su población está siendo objeto de una grave reducción, y aunque todavía es abundante en algunas localidades aún no se ha garantizado su continuidad de producción. La uña de gato actualmente está sometida a una explotación irracional, además del desplazamiento, que viene sufriendo por destrucción del hábitat.



## **PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS Y USOS ETNOMEDICOS:**

### ***Inmunoestimulante:***

Esto se debe a la presencia de las vitaminas liposolubles (A y D) e hidrosolubles (B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub> y C), quienes integran sistemas enzimáticos actuando como coenzimas o formando parte de la molécula de coenzimas. Otras cumplen su papel de un modo similar al de las hormonas, por esto son participantes esenciales de numerosas vías metabólicas y procesos fisiológicos. Además, la presencia de alcaloides como Isomitrofilina y Pteropodina aumentan la actividad fagocítica de los granulocitos, neutrófilos y macrófagos y estimulan la producción de linfoquinas. También aumentan el número de monolitos en fases activas en la circulación periférica. Los granulocitos incrementan en un 60% su poder fagocitario en presencia de extractos al 0.01%. No existe alteración en la proliferación de los linfocitos T en condiciones normales, pero hay un aumento de antígenos. Es útil en cáncer, SIDA, candidiasis sistémica y sarcoma.

- ***Cápsulas***

Algunos laboratorios o empresas agroindustriales han elaborado este tipo de producto que contiene de 0.5 a 6 gramos de corteza pulverizada, la dosis varía según la marca del producto.

- ***Pastillas o grageas***

Concentrados como productos atomizados o liofilizados, también la dosis varía de acuerdo con la marca del producto.

### ***Antinflamatorio:***

Gracias a los glicósidos quinóvicos. Útil en artritis, lupus, bursitis y fibromialgias.

- ***Cocimiento***

Se usan aproximadamente de 20 a 30 gramos de corteza cortada en pequeños fragmentos, los mismos que son hervidos en un litro de agua durante 20 a 30 minutos (bajo fuego), este liquido se enfría al medio ambiente. En algunas zonas se prefiere la maceración alcohólica de los trozos de corteza, previa al hervido (aproximadamente 2 horas antes). El líquido obtenido se bebe tres veces al día, aproximadamente cada 8 horas y alejado de las horas de comida (un litro al día).



### **Antiviral:**

Especialmente contra los ARN-virus encapsulados. Útil contra el virus del SIDA, herpes genital y herpes zoster.

- **Infusión**

Se emplean 10 gramos de hojas aproximadamente en un recipiente, se agregan 200 mililitros de agua hirviendo, se cubre y se deja reposar por 10 minutos, luego este líquido es ingerido tres veces al día (total 600 mililitros). Este preparado es usado con menor frecuencia.

### **Antimutágeno y citostático.**

Acción de vida a la Isomitrafalina. Inhibe el ADN polimerasa alfa. Las mitosis de las células HL pueden reducirse, mientras que los fibroblastos normales no pueden alterarse. Útil en cáncer in vivo, evitando la metástasis.

- **Tintura**

Se prepara en alcohol de 70 grados al 10 por ciento o más, combinado frecuentemente con otras plantas. Asimismo el macerado en aguardiente de caña o pisco presenta alcoholes de 40 grados, que pueden ser consumidos puros o con saborizantes. Se recomienda consumir la solución a la semana, cuando empieza a pintar el líquido.

### **Aplicaciones y presentación de la uña de gato:**

La aplicación más popular de la uña de gato ha sido el cocimiento de la corteza, aunque las dosificaciones varían de acuerdo con la enfermedad y las características fisiológicas de las personas que se someten al tratamiento. Otra forma de uso de la corteza de la uña de gato es a través de los extractos alcohólicos, usados por lo general para contrarrestar procesos inflamatorios, en este caso tendría una mayor concentración de principios activos que los extractos acuosos. Actualmente se usan cápsulas y grageas, cuyo uso se ha generalizado en el mercado. Las cápsulas contienen un producto atomizado con lo que se debe tener cuidado de que no estén adulteradas. Las pastillas o grageas en general corresponden a concentraciones de productos atomizados o liofilizados. A continuación se presentan las dosis de uso popular de la uña de gato:



### **Indicaciones:**

El rangayo es recomendado para el tratamiento de las enfermedades y padecimientos más comunes: alergias, artritis, asma, cáncer, colitis, debilidad por convalecencia, depresión orgánica, desórdenes intestinales, desórdenes menstruales, diabetes, disentería, diverticulitis, enfermedades venéreas (gonorrea), fatiga crónica, fístulas, gastritis, hemorroides, herpes genital, incontinencia, infecciones virales, inflamación del tracto urinario, inmunodeficiencia, limpieza del tracto digestivo, enfermedades de Crohn, parásitos, desbalance de la flora intestinal, próstata, removedor de toxina, SIDA, tumores y úlcera.

### **Contraindicaciones:**

No se han reportado intoxicaciones, sin embargo, se recomienda que se debe continuar investigando el grado de toxinas a fin de esclarecer con exactitud la dosificación a recomendarse en humanos, sus indicaciones precisas, contraindicaciones y efectos secundarios.

### **Efectos secundarios:**

No existen de forma agravada, pero existe la creencia de no usar en mujeres embarazadas ya que posee propiedades anticonceptivas.

### **Importancia:**

La **Uncaria tomentosa** es una especie que ha demostrado en estudios químicos su propiedad antimutagénica debido a su efecto antioxidante, que en nuestros días es una gran necesidad debido a la existencia de diversas patologías tumorales atribuida entre otras cosas a la acción mutagénica del oxígeno activo y los radicales libres, <sup>(3)</sup> los cuales han sido relacionados a procesos patológicos cancerígenos y al proceso de envejecimiento, ante esto la presencia de antioxidantes naturales con diversas estructuras químicas y sus mecanismos de acción como inhibidores han constituido un vasto campo de acción para la investigación científica. Estos antioxidantes naturales reducen o eliminan directa o indirectamente el efecto mutagénico de muchas sustancias químicas. En este sentido se reportó un estudio en 1993<sup>(3)</sup> ("Mutagenic and antimutagenic activities of **Uncaria tomentosa** and its extracts") en el que determinaron la actividad antimutagénica de la corteza de **Uncaria tomentosa** (willd).D.C;

Por lo cual la uña de gato es una alternativa terapéutica y económica en nuestro país, con las consecuencias que ello implica.



Es una actividad económica rentable para nuestros campesinos, su aprovechamiento racional y controlado contribuirá al desarrollo sostenible de las comunidades del municipio de San Carlos, departamento de Río San Juan y sus alrededores. Esta actividad extractiva se encuentra en función del incremento de la demanda de corteza y de los productos farmacéuticos e industriales.

Todo esto permite una nueva alternativa para el aprovechamiento de los recursos forestales del bosque que permiten un mejor uso de la tierra y de las especies existentes allí. La importancia de la uña de gato en el mercado es una opción productiva para el agricultor.

Se incorporan recursos fitogenéticos rentables a sistemas de manejo en bosques primarios y secundarios o áreas cultivadas, con lo que se incrementan las oportunidades de desarrollar cultivos múltiples o sustitutos de cultivos tradicionales.



## HIPÓTESIS

El género ***Uncaria*** en la especie ***tomentosa*** nicaragüense contiene componentes vitamínicos liposolubles e hidrosolubles.



## DISEÑO METODOLÓGICO

### Tipo de estudio:

El presente estudio es de tipo experimental y descriptivo.

### Área de estudio:

Este estudio se realizó en el área de productos naturales en el departamento de Análisis de tóxicos y medicamentos, de la facultad de Ciencias Químicas, ubicada en el Complejo Docente de la Salud, Campus Médico, UNAN – LEON.

### Universo:

Género ***Uncaria*** en la especie ***tomentosa*** nicaragüense encontradas en el departamento de Río San Juan, municipio San Carlos.

### Muestra:

Corteza del género ***Uncaria*** en la especie ***tomentosa*** recolectada en la finca “El Valle”, comarca “Santa Isabel”, municipio de San Carlos, departamento de Río San Juan.

### PROCEDIMIENTO:

La especie vegetal fue recolectada de forma directa el día dos de enero de dos mil tres en coordinación con personas originarias en la zona de ubicación de la especie a estudiar, luego se procedió a limpiarla separando la corteza de interés. Realizándosele reconocimiento taxonómico, por parte del Herbario de la UNAN-León como respaldo científico en la verificación botánica antes de empezar el estudio fitoquímico.

Para la ejecución de este estudio monográfico se realizaron revisiones bibliográficas en libros y en diferentes páginas de Internet, además de consultas a docentes especialistas en la materia. El proceso de secado para la corteza se realizó al aire libre y en la sombra. La corteza fue pulverizada utilizando un molino eléctrico (*ver equipo utilizado*) hasta obtener 250 gramos.



Los extractos que se obtuvieron de los diferentes macerados se almacenaron en frascos color ámbar, a una temperatura de 20° C.

### **Técnicas analíticas:**

Para la identificación se utilizaron métodos colorimétricos y la técnica instrumental cromatografía en capa fina.

### **METODO DE EXTRACCIÓN:**

1. **Tratamiento de la muestra:** Con la técnica maceración acelerada

#### **Preparación de la muestra:**

La vitamina en estudio puede hallarse bien en estado libre o en forma combinada. El método más sencillo para liberar a las vitaminas de sus diversas formas combinadas es macerar la muestra en agua (vitaminas hidrosolubles) y en solventes apolares (vitaminas liposolubles) esto va a depender de su composición variable y naturaleza.

#### **a)- Muestra en ciclohexano:**

Se preparó 5 g de muestra de corteza pulverizada de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense en 50 ml ciclohexano, dejando macerar durante 6 horas, luego se procedió a concentrar hasta 10 ml aproximadamente en baño maría, filtrando el concentrado.

#### **b)-Muestra en éter etílico:**

Se preparó 5 g de muestra de corteza pulverizada de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense en 50 ml éter etílico, dejando macerar durante 6 horas, luego se procedió a concentrar hasta 10 ml aproximadamente en baño maría, filtrando el concentrado para obtener el extracto.

#### **d)- Muestra en ácido oxálico:**

Se preparó 5 g de muestra de corteza pulverizada de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense en 50 ml ácido oxálico al 1%, dejando macerar durante 6 horas, luego se procedió a concentrar hasta 10 ml aproximadamente en baño maría, filtrando el concentrado, para obtener el extracto.



**e)- Muestra en Metanol:**

Se preparó 5 g de muestra de corteza pulverizada de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense en 50 ml de metanol, dejando macerar durante 6 horas, luego se procedió a concentrar hasta 10 ml aproximadamente en baño maría, filtrando el concentrado, para obtener el extracto.

**f)- Muestra en agua destilada:**

Se preparó 5 g de muestra de corteza pulverizada de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense en 50 ml de agua destilada, dejando macerar durante 6 horas, luego se procedió a concentrar hasta 10 ml aproximadamente en baño maría, filtrando el concentrado, para obtener el extracto.

**g)- Muestra tratada por hidrólisis alcalina sometida a reflujo:** Para extraer sustancias interferentes.

Se preparó 5 g de muestra de corteza pulverizada de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense, adicionándole éter dietílico y éter de petróleo para la extracción de los compuestos vitamínicos de interés, luego se procedió a filtrar al vacío (mediante el equipo de destilación), el residuo se saponificó con 20 ml alcohol absoluto, más 3 ml de hidróxido de potasio al 33% e Hidroquinona 20 mg. Se transfirió a reflujo por media hora en baño maría. Dejándolo enfriar, para transferirlo a un embudo separador, extrayendo 3 porciones de éter dietílico de 20 ml y 3 porciones de éter de petróleo. Obteniendo extractos etéreos y el residuo etanol, a éste último se le realizaron extracciones con éter de petróleo y cloroformo.

**2. Patrones de las Vitaminas liposolubles e hidrosolubles:** Tratamiento de los patrones, dependiendo de su solubilidad en el solvente

a)- Vitamina A palmitato: Disolver 0.5 ml en 20 ml de éter de petróleo.

b)- Vitamina D : Disolver 1 g de vitamina D<sub>3</sub> en 20 ml de ciclohexano.

c)- Vitamina E : Disolver 1 g de vitamina E en 30 ml de ciclohexano.

d)- Vitamina B<sub>1</sub>:Disolver 1 g en 40 ml de agua destilada.

e)- Vitamina B<sub>12</sub>: Disolver 1 g en 80 ml de agua destilada.

f)- Vitamina C: Disolver 1 g en solución en ácido oxálico al 0.5%



## **PROCEDIMIENTO ANALÍTICO:**

### **I) Reacciones colorimétricas**

#### **Vitamina A**

##### **Prueba de coloración de la Vitamina A por el método Carr –Price:**

El método del tricloruro de antimonio de Carr-Price es el procedimiento fotométrico mejor conocido y más frecuentemente empleado para el análisis de la vitamina A. Se basa en la medida de la coloración azul que se obtienen con tricloruro de antimonio en solución clorofórmica a 620 nm. Tiene la ventaja sobre la determinación espectrofotométrica de que está menos expuesto a interferencias, y consecuentemente posee un mayor margen de aplicación. Son muy pocos los compuestos que dan una reacción coloreada similar con tricloruro de antimonio.

El desvanecimiento de la coloración se afectan por la temperatura y por la presencia de trazas de agua y alcohol; la coloración es tan fugaz que es necesario realizar las lecturas en el intervalo comprendido entre los cinco y diez segundos después de la adición del reactivo., porque interfieren los carotenoides, incluyendo el  $\beta$ -caroteno, que se hallan con mayor frecuencia como sustancias acompañantes de la vitamina A.

#### **Vitamina E**

##### **Prueba de coloración de la Vitamina E por el método M. Furter y R.E. Meyer (rojo de tocoferol):**

Este método se basa en la oxidación del tocoferol libre (después de la hidrólisis de los ésteres de tocoferilo presentes) por medio del ácido nítrico, originándose un producto de reacción de coloración marrón-rojiza (rojo de tocoferol). Es un procedimiento suficientemente específico para el análisis de  $\alpha$ -tocoferol en preparaciones farmacéuticas de vitamina E. Es menos adecuado para la investigación de esta vitamina en productos naturales debido, en primer lugar, a que los tocoferoles que acompañan al D- $\alpha$ -tocoferol en los materiales biológicos dan coloraciones similares, además que el contenido de vitamina E de los productos naturales es normalmente muy bajo y no puede ser detectado por este método.



### **Prueba de coloración de la vitamina E por el método de A. Emmerie y Ch. Engel:**

Este método se basa en la reducción de los iones  $Fe^{3+}$  a  $Fe^{2+}$ , que forman un complejo de color rojo intenso con el 2,2-bipiridilo. Aunque esta reacción no es específica, ya que otros agentes reductores dan la misma coloración en presencia de cloruro férrico y 2,2-bipiridilo, el método de Emmerie y Engel es uno de los más empleados para la determinación de la vitamina E, debido a su sencillez y reproducibilidad.

Este método es de gran utilidad para el análisis de la vitamina E, particularmente en productos naturales tales como alimentos, órganos, etc. Debe emplearse en combinación con los procedimientos adecuados para el aislamiento y purificación de la vitamina E, que permitan separar cuantitativamente el  $\alpha$ -tocoferol y eliminar las impurezas interferentes. El extracto o muestra en éter de petróleo o éter etílico deben saponificarse previamente.

### **Vitamina B<sub>12</sub>**

#### **Prueba de coloración de la vitamina B<sub>12</sub> por el método de Boxer y Richards:**

Se basa en la absorción de la luz de la propia vitamina B<sub>12</sub> en solución acuosa o bien en la determinación del grupo cianuro de la cianocobalamina.

### **Vitamina C**

#### **Prueba de coloración de la vitamina C por el método de J. Tillmans:**

Este método se basa en que la vitamina C se valora con 2,6-diclorofenol-indofenol un agente oxidante, es el más utilizado durante muchos años para la identificación y valoración de la vitamina C, oxidando el ácido ascórbico en ácido dehidroascórbico dando una intensa coloración azul o negra.

#### **Prueba de coloración de la vitamina C por el método de Roe y Kuether:**

Es de aplicación general para este tipo de vitamina, el ácido dehidroascórbico reacciona con 2,4-dinitrofenilhidrazina para formar la 2,4-dinitrofenilhidrazona que se disuelve al adicionar ácido sulfúrico, dando coloración anaranjada.



## Liposolubles:

- Prueba para  $\beta$ -caroteno  
Reactivo : *Carr-Price*.  
Mezclar tricloruro de antimonio al 3% en cloroformo.  
Reactivo: Pentacloruro de antimonio 3% en cloroformo.  
Mezclar pentacloruro de antimonio al 3% con cloroformo aforar  
Reactivo: Acido sulfúrico al 95%
- Prueba para Vitamina D:  
Reactivo: *Panalaks y Campbell*.  
Mezclar Tolueno con butanol a la muestra problema  
Reactivo: ácido perclórico al 70%  
Reactivo: *Lieberman Burchard*  
Se toman 2 ml de la muestra y 2 ml del patrón a cada uno se les agrega 0.5 ml de cloroformo luego 0.4 ml de anhídrido acético posteriormente se le agrega por las paredes del tubo de ensayo unas gotas de ácido sulfúrico.
- Prueba para  $\alpha$ -tocoferol:  
Reactivo: Ácido sulfúrico al 95%  
Reactivo: Ácido perclórico al 70%  
Reactivo: *Emmerie y Ch. Engel*  
Mezclar 2 ml cloruro férrico y 0.2 microgramo de 2,2'bipiridilo  
Reactivo: *Furter y Meyer*  
Adicionar 1 ml de ácido nítrico al 65%

## Hidrosolubles

- Prueba para vitamina B<sub>1</sub>  
Reactivo: Del Acetato de plomo al 3% más hidróxido de sodio al 10%  
Reactivo: Azul de bromofenol 0.1% más hidróxido de sodio al 10%  
Reactivo: Ferricianuro de Potasio 1% con 24 ml de Hidróxido de sodio
- Prueba para vitamina B<sub>12</sub>  
Reactivo: Del método *Boxer y Rickards*  
Agregar Cianuro al 3%
- Prueba para vitamina C  
Reactivo: Del método *J. Tillmans*  
Mezclar 2,6-diclorofenol-indofenol 3% con solución ácido oxálico 1%  
Reactivo: Nitrato de plata amoniacal 3%  
Reactivo: Del método *Roe y Kuether*  
Mezclar 2,4-Dinitrofenilhidrazina al 3% con ácido sulfúrico



## **II) Cromatografía en capa fina:**

Se realizó el estudio cualitativo a través de la técnica cromatográfica de capa fina determinando la presencia de compuestos vitamínicos, de la siguiente manera:

- 1)- Se lavaron las placas de vidrio 10 x 20 cm y 20 x 20 cm con agua destilada y alcohol, dejándolas secar.
- 2)- Utilizando una cocina eléctrica se puso a ebullición 70 ml de agua destilada para 8 placas de 10 x 20 cm con espesura de 0.25 mm.
- 3)- Luego se preparó la fase estacionaria con silica- gel ( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) tomando 30 g adicionándole los 70 ml de agua destilada (paso 2), agitando hasta obtener una buena consistencia.
- 4)- Se le adicionó la silica- gel distribuida uniformemente a las placas de vidrio.
- 5)- Las placas se dejaron secar a temperatura ambiente durante 20 minutos.
- 6)- Se procedió a preparar las diferentes fases móviles con sus proporciones adecuadas a utilizar con sus respectivos solventes.
- 7)- Se saturó la cámara cromatográfica con el eluente adecuado, colocando papel filtro en el interior de la cámara durante 45 minutos.
- 8)- Secas las placas se procedió a introducirlas al horno a temperatura de 40 °C durante 30 minutos.
- 9)- Se utilizaron extractos de la muestra a analizar en diferentes solventes y patrones de vitaminas (puras), se aplicó por medio de un tubo capilar sobre las placas previamente preparadas. Utilizando secadora después de cada aplicación.
- 10) – Se colocó la placa verticalmente dentro de la cámara previamente saturada con el vapor del eluente adecuado, de tal forma que la parte inferior de la placa que contiene la muestra entró en contacto con la fase móvil. El eluente emigró 10 cm por capilaridad en la placa cromatográfica, separando por migración diferencial los componentes de la mezcla; en éste caso de las vitaminas.
- 11)- Después de que ha ocurrido lo anterior, se procedió a evaporar el eluente y activar el revelador en el horno a una temperatura de 70°C. Se observó y analizó en luz visible o UV .



El factor de retención es la medida de la migración de una sustancia determinada en un solvente dado.

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida por la sustancia}}{\text{Distancia recorrida por el solvente}}$$

A causa del riesgo de oxidación de la vitaminas A, D y E, y de isomerización de la vitaminas A y D, la rapidez en el proceso analítico fue esencial en el caso de las vitaminas liposolubles. Cuanto más rápida es la colocación del volumen necesario de muestra en la cromatoplaca y su disposición en la cámara de desarrollo, fueron menores las pérdidas.

### **ENSAYOS DE IDENTIDAD:**

- Identificación de retinol ( $\beta$ -caroteno) :

Fase estacionaria: gel de sílice en capa de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: Ciclohexano: éter (4:1)

Revelador: Ácido fosfomolibdico

Aplicación: 10 microlitros de patrón en punto

25 microlitros de muestra en banda

Corrida: 10 cm.

- Identificación de ergo-calciferol ( $D_2$ ) y de colecalciferol ( $D_3$ ):

Fase estacionaria: gel de sílice en capa de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: Ciclohexano: éter (4:1)

Revelador: Solución de cloruro en solución de tricloruro de antimonio (1:50).

Aplicación: 10 microlitros de patrón en punto

25 microlitros de muestra en banda

Corrida: 10 cm.

- Identificación de vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol) :

Fase estacionaria: gel de sílice en capa de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: Ciclohexano: éter (4:1)

Revelador: Solución de cloruro férrico – 2.2'-bipiridilo

Aplicación: 15 microlitros de patrón en punto

25 microlitros de muestra en banda

Corrida: 10 cm.



- Identificación de vitamina B<sub>1</sub>:

Fase estacionaria: gel de sílice en capa de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: 1) N-propanol:agua (1:1)

2) Butanol: agua: ácido acético glacial (60:25:15)

Revelador: Hexacianoferrato de potasio 0.3%.

Aplicación: 10 microlitros de patrón en punto

10 microlitros de muestra en punto

Corrida: 10 cm.

- Identificación de vitamina B<sub>12</sub>:

Fase estacionaria: gel de sílice en capa de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: 1)- Cloroformo: metanol: amoníaco 6 M (60:40:12)

2)- n-propanol:agua (1:1)

Aplicación: 10 microlitros de patrón en punto

10 microlitros de muestra en punto

Corrida: 12 cm.

- Identificación de vitamina C:

Fase estacionaria: gel de sílice en capa de 0.25 mm de espesor.

Fase móvil: 2 g de ácido oxálico en 60 ml de agua la solución se agita con 40 ml de butanol. Se separa la fase orgánica y se le añade 1 mg de cianuro de potasio disueltos previamente en agua destilada. El líquido se emplea como disolvente para el desarrollo cromatográfico.

Aplicación: 10 microlitros de patrón en banda

20 microlitros de muestra en banda

Corrida: 12 cm.



## REACTIVOS Y SOLVENTES

### Acetato de plomo: $\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2) \cdot 3\text{H}_2\text{O}$

Propiedades: Cristales o copos blancos. Absorbe dióxido de carbono cuando se expone al aire y se vuelve insoluble en agua. Soluble en agua; ligeramente soluble en alcohol; libremente soluble en glicerina. P.e., 2,50; pierde  $\text{H}_2\text{O}$  a  $75^\circ\text{C}$ ; descompone a  $200^\circ\text{C}$ ; p. eb.(anhídrido)  $280^\circ\text{C}$ . Combustible.

### Acetona: (Dimetilcetona; 2-propanona) $\text{CH}_3\text{COCH}_3$

Propiedades: Líquido incoloro, volátil; olor algo dulce. P.f.,  $94,3^\circ\text{C}$ ; P.eb.,  $56,2^\circ\text{C}$ . Miscible con agua, alcohol, éter, cloroformo y la mayoría de aceites.

### Acetonitrilo: (cianuro metílico) $\text{CH}_3\text{CN}$

Propiedades: Líquido límpido, incoloro, olor aromático, p. eb.,  $82^\circ\text{C}$ ; p. f.,  $41^\circ\text{C}$ ; Soluble en agua y alcohol. Constante dieléctrica elevada, gran polaridad, fuertemente reactivo.

### Ácido acético glacial.

Propiedades: líquido claro e incoloro; olor muy picante. P.f.,  $16,63^\circ\text{C}$ ; p.eb.,  $118^\circ\text{C}$  (765 mm). Miscible con agua, alcohol, glicerina y éter; insoluble en sulfuro de carbono; temperatura de autoignición  $426^\circ\text{C}$ .

### Ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ )

Propiedades: Líquido transparente, incoloro o amarillento; sofocante cáustico y corrosivo. El color amarillo se debe al desprendimiento del dióxido de carbono al exponerlo a la luz. Miscible con agua. P. eb. (descompone),  $86^\circ\text{C}$ ; p.f.,  $41, 59^\circ\text{C}$ , p.e., 1,504 ( $25/4^\circ\text{C}$ )

### Ácido oxálico: ( $\text{HOCCOOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$ )

Propiedades: Cristales incoloros, transparentes; p. f.,  $187^\circ\text{C}$ , forma anhidra,  $101,5^\circ\text{C}$  el dihidrato.



### **Ácido perclórico: ( HClO<sub>4</sub> )**

Propiedades: Líquido incoloro, higroscópico. Inestable en forma concentrada. P. e., 1,764; p. f., 18°C; p. eb., 203°C. Soluble en agua y alcohol; es bastante estable cuando no existen otros productos.

### **Ácido sulfúrico: ( H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> )**

Propiedades: Líquido aceitoso, denso, fuertemente corrosivo; de incoloro a pardo oscuro, depende de su pureza. Miscible con agua en todas proporciones. Muy reactivo, disuelve la mayoría de metales; el ácido concentrado oxida, deshidrata o sulfota la mayoría de compuestos orgánicos, a menudo causa carbonización. P.f.10,4°C. P.eb., varía entre 315-338°C debido a la pérdida del trióxido de azufre durante el calentamiento a 300°C o mayor temperatura.

### **Agua (H<sub>2</sub>O)**

Propiedades: Líquido incoloro, inodoro e insípido; las formas alotrópicas son hielo (sólido) y vapor. Es un líquido altamente polar con alta constante dieléctrica (81 a 17°C) lo que explica su poder disolvente. Tiene actividad catalítica definida, especialmente de oxidación metálica. A la presión atmosférica tiene un p.e. 1,00 (4°C).

### **Alcohol: ( C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub> + 1OH )**

Propiedades: Los alcoholes en general, son líquidos incoloros con una amplia gama de puntos de ebullición. Son una clase de compuestos orgánicos que contienen uno o más radicales hidroxilos y cuya fórmula genérica es C<sub>n</sub>H<sub>2n</sub> + 1OH para los derivados alcohólicos de hidrocarburos saturados.

### **Amoníaco: ( CH<sub>3</sub> )**

Propiedades: Gas (o líquido) incoloro, olor acre, intensamente irritante; más ligero que el aire. P.eb., 33,5°C; muy soluble en agua, alcohol y éter.

### **Anhídrido acético: (CH<sub>3</sub>CO)<sub>2</sub>O**

Propiedades: Líquido incoloro, móvil, fuertemente refringente, olor penetrante, p.e 1,83 (20/20°C); Peb 139,9°C. Miscible en alcohol, éter y ácido acético.



### **Azul de bromofenol: (Tetrabromofenolsulftaleína)**

Indicador ácido-base que cambia de amarillo a púrpura en el intervalo de pH 3 a 4,6.

### **Benceno: C<sub>6</sub>H<sub>6</sub>**

Propiedades: Líquido de color amarillo claro a incoloro, movable, no polar y de naturaleza altamente refractiva; color aromático. P. eb., 80,1°C; p.f. 5,5°C. Miscible con alcohol, éter, acetona, tetracloruro de carbono, disulfuro de carbono, ácido acético; ligeramente soluble en agua.

### **2,2 bipyridilo**

Propiedades: soluble en 200 partes de agua, muy soluble en alcohol, éter, benceno, cloroformo y éter de petróleo.

### **Butanol: CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH**

Propiedades: Líquido incoloro; color a vino, p. eb, 117,7°C. Miscible con alcohol y éter.

### **Cianuro de potasio: CNK**

Propiedades: Terrones amorfos, delicuescentes, o masa cristalina; color blanco; débil olor a almendras amargas; soluble en agua, alcohol y glicerina; p.e., 1,52 (16°C); p.f. 634°C.

### **Ciclohexano: C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>**

Propiedades: Líquido incoloro, móvil. Olor fuerte, p.e. 0,779 (20/4°C) p. eb. 80,7°C; p.f. 6,3°C. Insoluble en agua. Soluble en alcohol, acetona y benceno.

### **Cloramina: NH<sub>2</sub>Cl**

Propiedades: Líquido inestable, picante e incoloro; soluble en agua; descompone (lentamente en solución diluida) formando nitrógeno, ácido clorhídrico y cloruro amónico; p.f. 66°C; soluble en alcohol y éter.

### **Cloroformo**

Propiedades: Líquido volátil, transparente, incoloro, muy refringente, color característico, sabor dulce. Miscible en alcohol, éter, benceno, disolventes de la nafta; aceites fijos y volátiles; ligeramente soluble en agua, p.e. 1,485 (20/20°C); p. eb. 61,2°C; no inflamable pero puede arder expuesto prolongadamente al fuego a altas temperaturas.



### **Cloruro de sodio: NaCl**

Propiedades: Cristales transparentes, incoloros o polvo blanco cristalino; algo higroscópico; soluble en agua y glicerol, muy soluble en alcohol. P. e., 2,165; p. f., 801°C. No combustible; poco tóxico.

### **Diclorofenol-indofenol: Cl<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>OH**

Propiedades: Sólido blanco de bajo punto de fusión, 45°C; p.eb. 210°C; soluble en alcohol y tetracloruro de carbono, poco soluble en agua.

### **2,4-Dinitrofenilhidrazina (NO<sub>2</sub>)<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>3</sub>NHNH<sub>2</sub>**

Propiedades: Polvo rojo cristalino; p.f., alrededor de 200° C. Ligeramente soluble en agua y alcohol; soluble en ácidos inorgánicos moderadamente diluidos; fácilmente soluble en diglima.

### **Etanol.**

Propiedades: Índice de referencia 1,351 (15 °C), tensión superficial 22,8 dinas cm (20° C), viscosidad 0,014 poises (20° C); p.e. 0,816 (15,56° C); P. Eb. 75° C.

### **Éter etílico: (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>**

Propiedades: Líquido incoloro, móvil, volátil; higroscópico; olor aromático; sabor ardiente y dulce. P. Eb. 34,5 C. Soluble en alcohol, cloroformo, benceno, disolvente de nafta y petróleos; ligeramente soluble en agua.

### **Éter de petróleo.**

Éste término es usado sinónimamente por la MCA con nafta de petróleo y es reseñado como tal en las precauciones de transporte de ICC e IATA. Técnicamente está equivocado, porque no es un éter en el sentido químico.

### **Hexano: CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>CH<sub>3</sub>.**

Propiedades: Líquido volátil, incoloro; olor débil; p.e., 0,65937 (20/ 4°C); p.eb., 68, 742°C; p. F., 95° C. Soluble en alcohol, acetona y éter ; insoluble en agua.

### **Hidroquinona: C<sub>6</sub>H<sub>4</sub>(OH)<sub>2</sub>**

Propiedades: Cristales blancos; insoluble en agua, alcohol y éter. P. e., 1,330; p.f., 170°C; p. eb., 285°C; combustible.



### **Hidróxido de potasio: KOH**

Propiedades: Fragmentos, terrones, barras, lentejas o escamas con fractura cristalina; delicuescente y blanco; absorbe agua y dióxido de carbono; soluble en agua, alcohol y glicerina; ligeramente soluble en éter; p. e., 2,044; p. f., 360°C, aunque varía con el contenido en agua.

### **Hidróxido de sodio: NaOH.**

Propiedades: Barras, terrones o copos blancos, delicuescentes; fractura cristalina. Absorbe agua y dióxido de carbono del aire. P. e., 213; p. f., 318°C; p. eb., 1,390°C. Soluble en agua, alcohol y glicerol.

### **Isopropanol: (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CHOH.**

Propiedades: Líquido incoloro; olor agradable; p. eb., 82,4°C; p. f., 86°C. Soluble en agua, alcohol y éter.

### **Metanol**

Propiedades: Líquido muy polar, móvil, incoloro, claro. Miscible con agua, alcohol y éter; p.f. 97,8°C; p.eb. 64,5°C.

### **n- propanol: CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH**

Propiedades: Líquido incoloro; olor similar a alcohol etílico; p.eb. 97,2°C; p.f. 120,0°C. Soluble en agua, alcohol y éter. Poco tóxico.

### **Nitrato de plata: NO<sub>3</sub>Ag**

Propiedades: Cristales rómbicos, incoloros, transparentes y tubulares, que toman color gris o negro grisáceos al ser expuestos a la luz en presencia de materia orgánica; inodoro; sabor cáustico metálico, amargo; fuerte agente oxidante y cáustico; soluble en agua fría, glicerina y alcohol caliente, ligeramente soluble en éter; p.eb. ., 4,328; p.f. ., 212°C p. eb., se descompone.

### **Pentacloruro de Antimonio: SbCl<sub>5</sub>**

Propiedades: Líquido aceitoso amarillo rojizo, olor repugnante; higroscópico. Solidifica por absorción de humedad; se descompone por un exceso de agua dando ácido clorhídrico y pentóxido de antimonio; soluble en solución acuosa de ácido tartárico, ácido clorhídrico y cloroformo; p.f. 2,8°C p.eb., 2,34; p.eb. , 92°C a 30 mm.



### **Silica gel**

Propiedades: Adsorbente regenerable consistente en sílice amorfa. No tóxico; no combustible.

### **Tolueno: CH<sub>3</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>**

Propiedades: Líquido incoloro, refractivo, olor semejante al benceno; p.e., 0,866 (20/4°C); p.f., 94,5°C; p.eb., 110,7°C. Soluble en alcohol, benceno y éter; insoluble en agua.

### **Tricloruro de Antimonio: SbCl<sub>3</sub>**

Propiedades: Masa incolora, transparente y cristalina; muy higroscópica, humea ligeramente al aire; soluble en alcohol, acetona y ácidos; con el agua forma oxiclورو de antimonio; p.e., 3,14; p. eb., 223,5°C; p.f. 73,2°C.



## MATERIALES Y EQUIPOS DE LABORATORIO

1. Balanza analítica , electronic balance, serie n° 4704233
2. Balanza mecánica, marca:
3. Cámara cromatográfica, ultra-violet, products, Inc. Cromatovue<sup>R</sup>Cobenet. Modelo N° CC-20
4. Campana extractora, catálogo N° 70190, serie n° 69411
5. Capilares de 5 ul
6. Cocinas
7. Cristalería : Beaker 1000ml, 600ml, 250ml, 100ml, matraces: 50ml, balones: 250ml, 100ml, 10ml.
8. Cromatofolio de silica gel 60F<sub>254</sub>
9. Equipo de destilación, marca:
10. Espátula, tamaño:
11. Hornos, marca:
12. Molino modelo N°4
13. Panas para baño maría
14. Papel filtro de 0.5mm
15. Papel para saturar cámara cromatográfica
16. Placas de vidrio, grosor:
17. Soporte universal
18. Termómetro
19. Tubos de ensayo



## VALORES DE SOLUBILIDAD DE LOS SOLVENTES UTILIZADOS

SOLVENTES	CONSTANTE DIELECTRICA a 25°C
Hexano	1,89
Ciclohexano	2,02
Benceno	2,28
Tolueno	2,38
Acetonitrilo	3,88
Éter etílico	4,34
Cloroformo	4,85
Acetato de etilo	6,02
Ácido acético	6,15
2-butanol	15,8
1-butanol	17,8
2-propanol	18,3
1-propanol	20,1
Acetona	20,7
Etanol	24,3
Metanol	33,6
Agua	78,3



## RESULTADOS

**Tabla N° 1**  
**Identificación de vitaminas liposolubles e hidrosolubles presentes en el género *Uncaria* en la especie *tomentosa* nicaragüense aplicando métodos colorimétricos**

Método/ Prueba	Procedimiento	Vitamina	Solvente	Patrón	Muestra	Resultado Muestra
Carr-Price	SbCl <sub>3</sub> 3% en 2 ml CHCl <sub>3</sub>	A (I)	Ciclohexano	Blanco	Castaño	-
Pentacloruro de antimonio	SbCl <sub>5</sub> 3% en 2 ml CHCl <sub>3</sub>	A (I)	Ciclohexano	Blanco	Blanco	+
Ácido fuerte	1 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 95%	A (I)	Ciclohexano	Café	Café	+
Panalaks y Campbell	3 ml CH <sub>3</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> en 2 ml CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OH	D (I)	Ciclohexano	Verde	Verde	+
Ácido fuerte	1 ml HClO <sub>4</sub> 70%	D (I)	Ciclohexano	Verde	Verde	+
Liberman Burchard	0.5 ml CHCl <sub>3</sub> , 0.4 ml (CH <sub>3</sub> CO) <sub>2</sub> O y 2 gotas H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	D (I)	Ciclohexano	Verde a amarillo	Verde a amarillo	+
Ácido fuerte	1 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 95%	E (I)	Éter etílico	Amarillo	Café	-
Ácido fuerte	1 ml HClO <sub>4</sub> 70%	E (I)	Éter etílico	Rojo	Incoloro	-
Emmerie y Ch. Engel	2 ml ClFe <sub>3</sub> 0.1% en alcohol absoluto y 1 ml C <sub>10</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> 0.2% en alcohol absoluto	E (I)	Éter etílico	Rojo	Anaranjado	-
Furter y Meyer	1 ml HNO <sub>3</sub> 65%	E (I)	Éter etílico	Rojo	Café	-



Método	Procedimiento	Vitamina	Solvente	Patrón	Muestra	Resultado
Formación precipitado	3 ml $Pb(C_2H_3O_2 \cdot 3H_2O)$ 3% y 2 ml NaOH 10%	B <sub>1</sub> (h)	Agua	Precipitado violeta	Precipitado violeta	+
Reacción del tiocromo	1 ml de $K_3[Fe(CN)_6]$ 1% con 24 ml de NaOH	B <sub>1</sub> (h)	Agua	Café	Café	+
Azul de Bromofenol	3 ml azul de bromofenol 0.1% e NaOH 10%	B <sub>1</sub> (h)	Agua	Rojo	Violeta rojizo	+
Boxer y Rickards	1 ml KCN 3%	B <sub>12</sub> (h)	Agua	Violeta intenso	Violeta intenso	+
J. Tillmans	3 ml $C_2H_2O_4$ 1% con $Cl_2C_6H_4OH$ 3%	C (h)	Agua	Negro	Negro	+
Nitrato de Plata	2 ml $NO_3Ag$ amoniacal 3%	C (h)	Agua	Precipitado plomo oscuro	Precipitado plomo	+
Roe y Kuether	2 ml $(NO_2)_2C_6H_3NHNH_2$ 3% con 1 ml $H_2SO_4$	C (h)	Agua	Amarillo intenso Anaranjado	Amarillo intenso	+

(l) : liposoluble  
(h) : hidrosoluble



**Tabla N° 2**  
**Valores de R<sub>f</sub> en vitaminas liposolubles e**  
**hidrosolubles mediante**  
**Cromatografía en capa fina**

Fase móvil	Vitamina	Solvente	R <sub>f</sub>	Revelador
Ciclohexano: Éter 4:1	A	Ciclohexano	0.1709	UV
Ciclohexano: Éter 4:1	D	Ciclohexano	0.0769	UV
Ciclohexano: Éter 4:1	E	Ciclohexano	-	UV
n-propanol : agua 1:1	B <sub>1</sub>	Agua	0.9056	UV
n-propanol : agua 1:1	B <sub>12</sub>	Agua	0.9245	UV
Cloroformo:Metanol : Amoníaco 6M 60:40:12			0.9246	
2g C <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O <sub>4</sub> en 60 ml H <sub>2</sub> O destilada, la solución se agita con 40 ml Butanol. Se separa la fase orgánica y se le añade 1 mg KCN disuelto previamente en H <sub>2</sub> O destilada	C	Agua	0.4025	UV

R<sub>f</sub>: Distancia recorrida por la muestra  
 Distancia recorrida por el solvente



## ANÁLISIS DE RESULTADOS

En las pruebas colorimétricas realizadas a cada una de las vitaminas liposolubles A ( $\beta$ -caroteno) y D; observamos que en la vitamina A en la primera prueba con tricloruro de antimonio 3% nos da negativo, porque éste reactivo es específico para la identificación de ésta vitamina en las formulaciones farmacéuticas y no para el  $\beta$ -caroteno presente en la muestra de planta medicinal (*Uncaria tomentosa*) en este caso para que pueda darnos un resultado positivo necesitamos aislar más el  $\beta$ -caroteno de impurezas interferentes. En la segunda prueba con Pentacloruro de antimonio 3% en  $\text{CHCl}_3$  y la tercera prueba con Ácido Sulfúrico al 95% nos dan resultados positivos por su especificidad, por lo tanto confirmamos que hay presencia de  $\beta$ -caroteno en nuestra muestra. Con respecto a las pruebas para la vitamina D todas las pruebas aplicadas dan resultados positivos con Tolueno en butanol, Ácido perclórico, y el reactivo con cloroformo, anhídrido acético y  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Son reactivos fuertes y específicos haya o no interferencias tanto en el patrón como en la muestra.

Referente a las pruebas colorimétricas realizada a la muestra y al patrón para evidenciar la presencia de  $\alpha$ -tocoferol los cuatro reactivos empleados dan negativos, demostrando que el  $\alpha$ -tocoferol no se encuentra dentro de los componentes vitamínicos de la *Uncaria tomentosa* nicaragüense. No podemos omitir mencionar que según estudios fitoquímicos realizados a la *Uncaria tomentosa* de origen peruana ésta pro-vitamina ( $\alpha$ -tocoferol) se ha encontrado en pequeñas cantidades; sin embargo esto no contradice nuestro resultado, porque existen investigaciones que demuestran que las variedades de nuestra especie en estudio (familia: rubiaceae), pueden tener relación con el clima y cambian de un patrón de compuesto a otro con el transcurrir del tiempo y para diferentes épocas del año, así mismo muestras de varias plantas individuales también tenían variaciones por lo tanto se deben realizar métodos de extracción, y purificación mejor tratados, en las que no haya compuestos que inhiban al  $\alpha$ -tocoferol y el reactivo pueda identificarla con claridad.

Para las pruebas de coloración en las que se evidenció existencia de vitaminas hidrosolubles  $\text{B}_1$ ,  $\text{B}_{12}$  y C; podemos dar el análisis de nuestros resultados argumentando que se realizaron para cada una de ellas, un máximo de tres pruebas y un mínimo de una prueba para este tipo de vitaminas.

Iniciando con la vitamina  $\text{B}_1$  se usaron los reactivos Acetato de Plomo 3% + Hidróxido de Sodio al 10%, ferricianuro de potasio en hidróxido de sodio y azul de bromofenol 0.1% + Hidróxido de Sodio al 10% todos dan positivo, por lo que afirmamos que nuestra muestra contiene Tiamina, los reactivos son muy específicos para este tipo de compuesto vitamínico. Para la vitamina  $\text{B}_{12}$  sólo aplicamos un reactivo el Cianuro al 3%, por su alta especificidad para esta estructura molecular, al adicionarle el reactivo de cianuro 3% se logró convertir la vitamina  $\text{B}_{12}$  a la forma cianocobalamina, dando un color rojizo propio de la



vitamina B<sub>12</sub>, este reactivo constituye una técnica de identificación, al convertir la forma acuocobalaminas presentes en nuestra muestra a cianocobalaminas exhibiendo la mayor especificidad. Por lo tanto consideramos que hay presencia de la vitamina B<sub>12</sub> es conveniente mencionar que hay reactivos específicos (encontrados en farmacopeas), donde la vitamina B<sub>12</sub> no es estable, pero que en nuestro laboratorio no contamos con dicho reactivo para aplicarlo a la muestra, y hay un sin número de reactivos generales que consideramos no apropiados para realizarlos a nuestra muestra por posibles reacciones con otros grupos funcionales existentes en ésta, por lo cual no sería un resultado confiable y exacto.

En cuanto a la vitamina C (ácido ascórbico) los reactivos adicionados fueron tres, con resultados positivos, solución ácido oxálico con 2,6-diclorofenol – indofenol 3% éste convirtió el ácido ascórbico en ácido deshidroascórbico, por la capacidad reductora que tiene la vitamina C dado por su sistema de enodiol, dando lugar a una 1,2-diona al oxidarse a ácido deshidroascórbico facilitando su detección, el reactivo nitrato de plata amoniacal al 3% formando un quelato, reacciona con el ácido ascórbico aprovechando la propiedad quelante del ácido ascórbico, se nos formó un precipitado afirmando su presencia en nuestra muestra, el tercer reactivo fue 2,4-dinitrofenilhidrazina al 3% más ácido sulfúrico al 95% el cual reaccionó con el ácido ascórbico presente al oxidarlo a ácido deshidroascorbico formando 2,4-nitrofenilhidrazona, que con el medio ácido adicionado originó una coloración anaranjada

En el análisis comparativo de nuestros resultados obtenidos mediante la técnica de cromatografía en capa fina de la muestra de corteza de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense previamente tratada, específicamente para cada compuesto vitamínico y los patrones de referencia de cada vitamina liposoluble e hidrosoluble hemos calculado R<sub>f</sub> específicos e iguales, tomando en cuenta afinidad con su respectivo solvente, separaciones bien definidas de las sustancias interferentes, y coloración característica de la mancha identificando la presencia de vitaminas y en el caso de la vitamina A, su provitamina “β-caroteno”.

Dentro de las que se identificaron con sus R<sub>f</sub> específicamente tenemos el precursor: β-caroteno R<sub>f</sub> = 0,1709, y las vitaminas D R<sub>f</sub> = 0,0769, vitamina B<sub>1</sub> R<sub>f</sub> = 0,9056, vitamina B<sub>12</sub> R<sub>f</sub> = 0,9245 y vitamina C R<sub>f</sub> = 0,4025. No se logró identificar la presencia de α-tocoferol por ninguna de las técnicas empleadas (colorimetría y CCF), por lo tanto no hay presencia de α-tocoferol en nuestra muestra de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense es importante mencionar que es un compuesto altamente sensible a la luz y al oxígeno atmosférico.

Por lo tanto en esta experimentación de los extractos de corteza de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense hemos encontrado presencia de compuestos vitamínicos fortaleciendo su estudio fitoquímico.



## CONCLUSIÓN

Considerando los estudios químicos realizados sobre **Uncaria tomentosa** hemos encontrado con la técnica colorimétrica presencia de constituyentes vitamínicos en los extractos de corteza de **Uncaria tomentosa**, específicamente de las vitaminas liposolubles: el retinol (su provitamina  $\beta$ -caroteno), la vitamina D, las hidrosolubles como la vitamina tiamina ( $B_1$ ), la cianocobalamina ( $B_{12}$ ) y el ácido ascórbico (C) confirmando la identificación de éstas vitaminas.

Evaluando nuestros resultados hemos presenciado que tanto las reacciones colorimétricas como la cromatografía en capa fina dan evidencia de las vitaminas liposolubles (A y D) e hidrosolubles ( $B_1$ ,  $B_{12}$ , y C) mediante su excelente desarrollo. Por lo tanto podemos afirmar que son parte de los compuestos que contiene la corteza de **Uncaria tomentosa** nicaragüense. No encontrando evidencia de la vitamina E en este caso su  $\alpha$ -tocoferol.

Por lo tanto nuestro estudio constituye un avance en la investigación fitoquímica de la **Uncaria tomentosa** nicaragüense y un reconocimiento científico más de nuestras especies nativas que contribuyan a la salud humana y una alternativa económica para la población nicaragüense.



## RECOMENDACIONES

- Continuar investigando los compuestos químicos y acciones biológicas de ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense.
- Fortalecer la identificación de las vitaminas en la ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense mediante el empleo de la técnica como HPLC para su correspondiente estandarización, útil como requerimiento humano.
- Retomar la técnica cromatografica utilizadas para la separación, aislamiento y/o purificación de las vitaminas encontradas.
- Tomar en cuenta en los procedimientos analíticos de vitaminas:
  - Saturar adecuadamente la cámara cromatográfica (evitando volatilización, midiendo el tiempo de saturación).
  - Almacenar los extractos siguiendo normas requeridas para vitaminas.
  - Utilizar en las reacciones colorimétricas reactivos específicos para cada vitamina.



## BIBLIOGRAFÍA

1. Strohecker, Rolf. Henning, Heinz M. Análisis de vitaminas, métodos comprobados. Primera Edición. Editorial Paz Montalvo, Madrid, 1967. Págs 7, 17, 18, 21, 41, 62, 80, 95, 185, 276, 309, 329, 343, 368.
2. Sharapin, Nikolai. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Primera Edición. Impresión: Quebecor-Impreandes. Págs 159, 161, 162.
3. Obregón, Lida. Uña de gato. Tercera Edición. Págs. 83-84. 137, 138, 147
4. Araúz Tórrez, Diana. Tesis Estudio comparativo ***Uncaria tomentosa***. Págs 15-27.
5. Braithwaite and F. J. Smith. et al. "Cromatographic methods". Fifth Edition. Editorial Blackie Academic & Professional. Págs 1-14, 44 – 104.
6. Randerath, Kurt. "Thin-Layer Chromatographic". II Edición. 1968. Library of Congress. Ed. Verlag Chemie. Págs 187-192.
7. Carrera G. Óscar. "Farmacia práctica de Remington". XII Edición. Editorial Hispano. Págs. 1057,1061.
8. D.J.Burton, J.L.Routh. "Química Orgánica y Bioquímica", I Edición, 1990, Editorial Mcgrauhill, páginas 221, 247, 312, 318, 319.
9. Fessenden Ralph J. "Química orgánica", I Edición, 1982, Editorial Iberoamérica , páginas 935, 885.
10. Barker, R. "Química orgánica de los compuestos biológicos", I Edición, 1975, Editorial Alambra, páginas 455, 456.



11. Bodin Jerome I. Et al, "Pharmaceutical analysis", I Edición 1961, Editorial John Wiley & Sons, páginas 657.
12. Skoob, Holler. Niemann. "Principios de análisis instrumental". Quinta edición. Imprenta McGrawHill, páginas 730, 731, 824-828.
13. Gessner G. Hawley. "Diccionario de química y de productos químicos". Ediciones Omega S. A., páginas 9, 13, 78-79, 110, 215, 289, 321, 361, 453, 461, 664, 679, 704, 706, 772-773, 777, 832.
14. Skoog Leary, "Análisis Instrumental" 4ª Edición, Editorial McGrawHill, páginas 1, 2, 771.

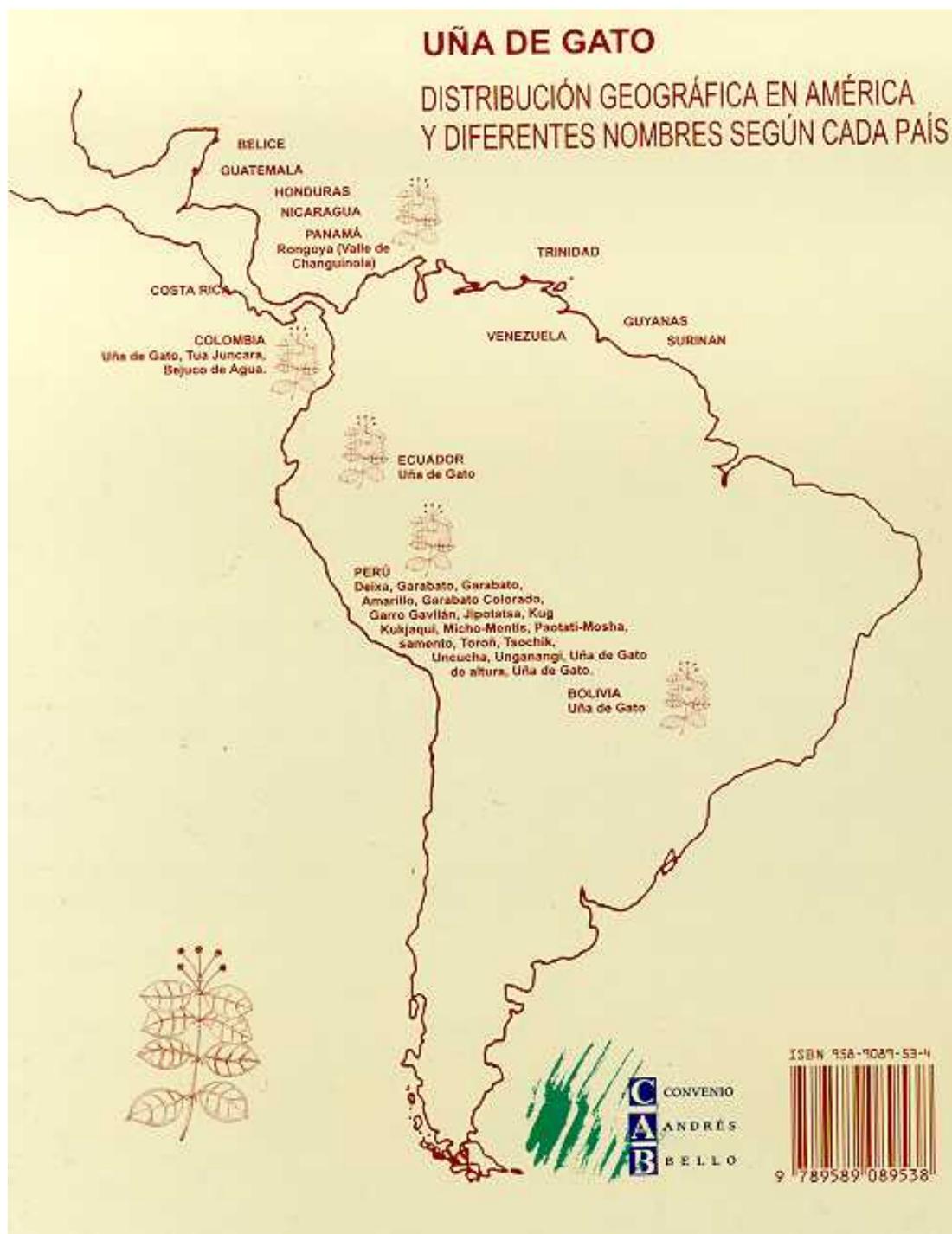
Referencias de Internte:

- [www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/páginas/culprom/ugato](http://www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/páginas/culprom/ugato)
- [www.ecoaldea.com](http://www.ecoaldea.com)



## ANEXOS

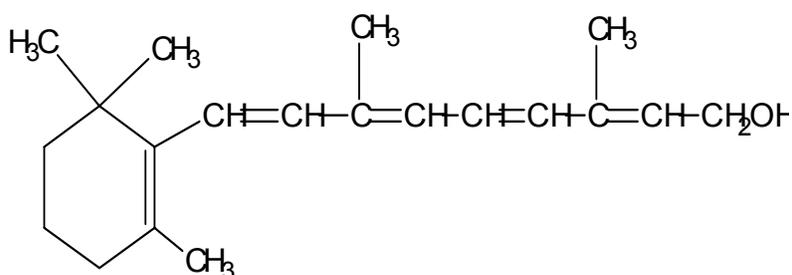
### ANEXO I: DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA EN AMÉRICA Y DIFERENTES NOMBRES SEGÚN CADA PAÍS





**ANEXO II**  
**ESTRUCTURA DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES E HIDROSOLUBLES**

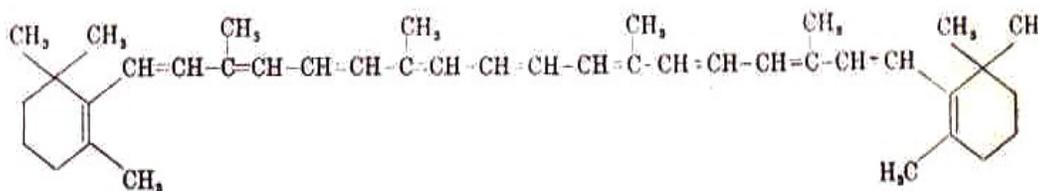
**Vitamina A: Estructura del Retinol**



Fórmula molecular:  $C_{20}H_{30}O$

Peso molecular: 286,46

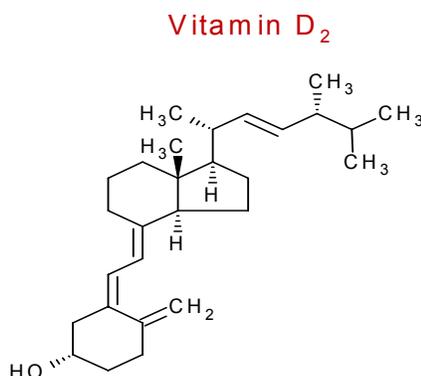
**$\beta$ -Caroteno**



Fórmula molecular:  $C_{40}H_{56}$

Peso molecular: 536,89

**Vitamina D<sub>2</sub> : Estructura del Ergocalciferol**



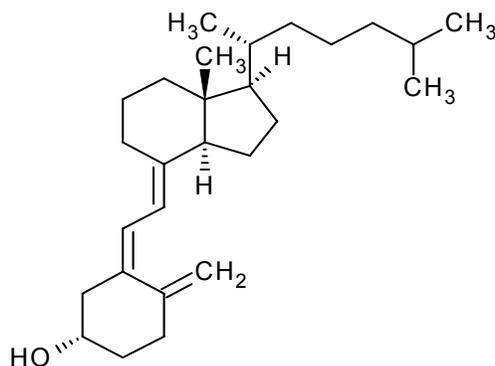
Fórmula molecular:  $C_{28}H_{44}O$

Peso molecular: 396.6



## Vitamina D<sub>3</sub> : Estructura del Colecalciferol

### Vitamin D<sub>3</sub>

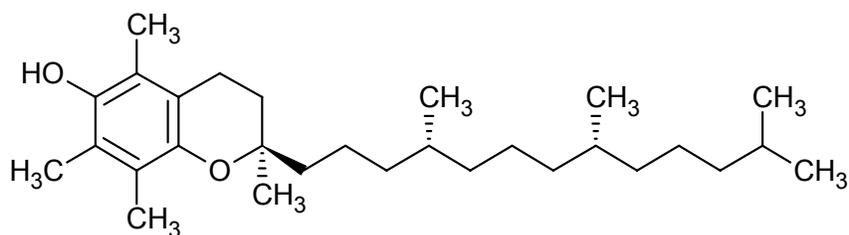


Fórmula molecular: C<sub>27</sub>H<sub>44</sub>O

Peso molecular: 384.64

## Vitamina E

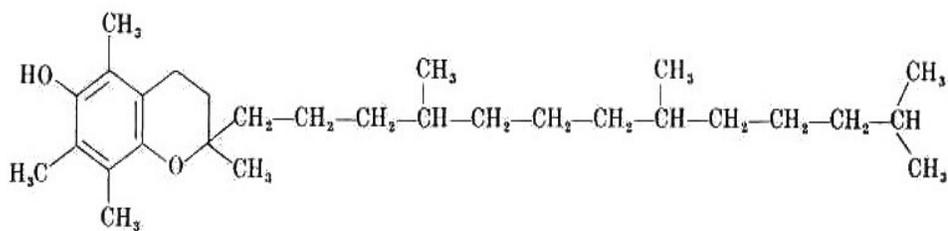
### Vitamin E



Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>

Peso molecular: 430.706

## *α*-tocoferol



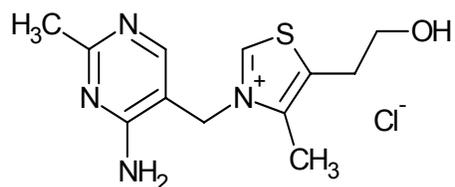
Fórmula molecular: C<sub>29</sub>H<sub>50</sub>O<sub>2</sub>  
Acetato de *α*-tocoferilo: C<sub>31</sub>H<sub>52</sub>O<sub>4</sub>

Peso molecular: 430,72  
Peso molecular: 472,76



## Vitamina B<sub>1</sub> : Estructura de la tiamina

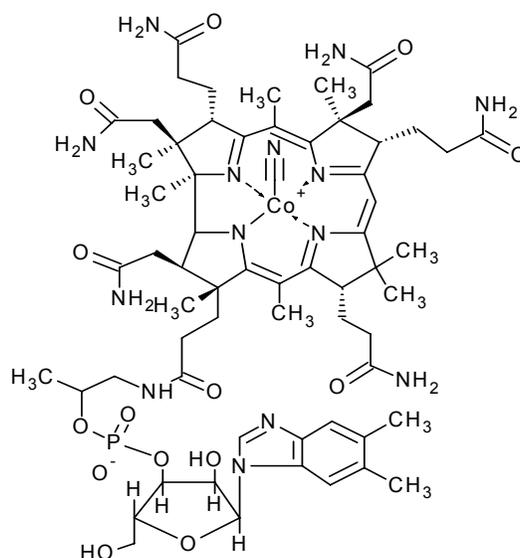
### Vitamin B<sub>1</sub>



Fórmula molecular: C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P

Peso molecular: 1.355,40

## Vitamina B<sub>12</sub> : Estructura de la cianocobalamina



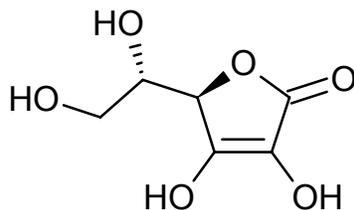
Fórmula molecular: C<sub>63</sub>H<sub>88</sub>CoN<sub>14</sub>O<sub>14</sub>P

Peso molecular: 1.355,40



## **Vitamina C: Estructura del ácido ascórbico**

### **Vitamin C**



Fórmula molecular:  $C_6H_8O_6$

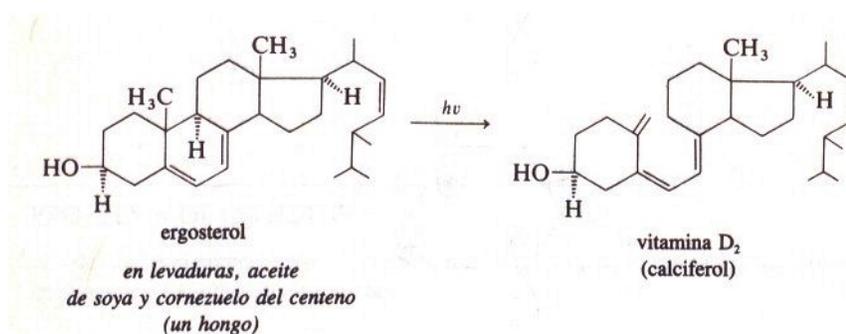
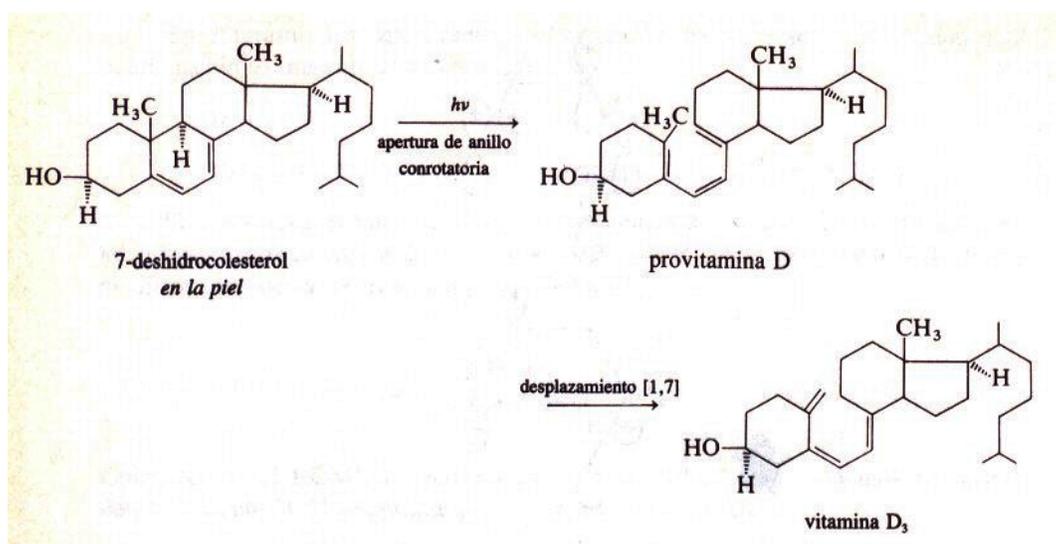
Peso molecular: 176.124



### ANEXO III SÍNTESIS DE LA VITAMINA D<sub>2</sub> Y D<sub>3</sub>

También llamada Bios, la vitamina D, según los químicos, está formada de por 5 átomos de carbono, 11 de hidrógeno, 1 de nitrógeno y 3 de oxígeno en su molécula.

Hay diversos compuestos con actividad de vitamina D, aunque solo dos de ellos se presentan generalmente en las drogas y alimentos antirraquíticos. Estos dos compuestos se producen por irradiación del ergosterol y el 7-dehidrocolesterol con luz ultravioleta. El ergosterol es un esteroide que existe en la levadura y los mohos; el 7-dehidrocolesterol se halla en la piel de los animales. El ergosterol irradiado se llama calciferol, o vitamina D<sub>2</sub>; el 7-dehidrocolesterol irradiado se llama vitamina D<sub>3</sub>. (Ver anexo III)





**ANEXO IV**  
**PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

**a)- Muestra en ciclohexano:**

5 g de muestra de corteza de uña de gato + 50 ml ciclohexano



Dejar macerando durante 6 horas  $\implies$  Concentrar hasta 10 ml aproximadamente  
En baño maría.



Filtrar

**b)-Muestra en éter etílico:**

5 g de muestra de corteza de uña de gato + 50 ml éter etílico



Dejar macerando durante 6 horas  $\implies$  Concentrar hasta 10 ml aproximadamente  
En baño maría.



Filtrar

**d)- Muestra en ácido oxálico:**

5 g de muestra de corteza de uña de gato + 50 ml de ácido oxálico al 1%



Dejar macerando durante 6 horas  $\implies$  Concentrar hasta 10 ml aproximadamente  
En baño maría.



Filtrar

**e)- Muestra en Metanol:**

5 g de muestra peruana en 50 ml de metanol  $\Rightarrow$  Macerar 6 horas  $\Rightarrow$  Filtrar.

5 g de muestra nicaragüense en 50 ml de metanol



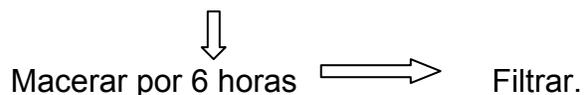
Macerar por 6 horas  $\implies$  Filtrar.



**f)- Muestra en agua destilada:**

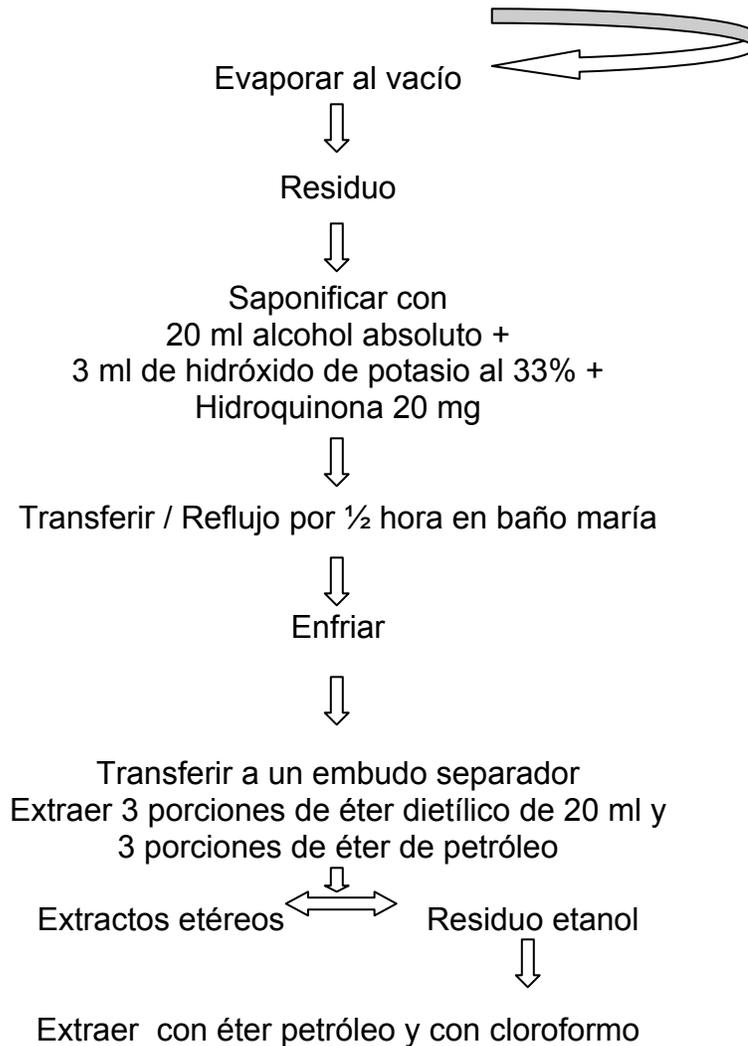
5 g de muestra peruana en 50 ml de agua destilada ⇨ Macerar 6 horas ⇨ Filtrar.

5 g de muestra nicaragüense en 50 ml de agua destilada



**g)- Muestra tratada por hidrólisis alcalina sometida a reflujo: Para extraer sustancias interferentes.**

5 g de muestra de uña de gato ⇨ Extraer con éter dietílico y éter de petróleo





## **ANEXO V** **GLOSARIO**

- **Acilo:** Radical orgánico ácido en el que el grupo OH está sustituido por algún otro constituyente RCO. Ejemplos: acetilo, CH<sub>3</sub>CO, benzoílo, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CO.
- **Extracción:** Es el proceso que inicia cuando la droga se pone en contacto con el solvente, penetra en la célula vegetal y expelle el aire contenido en el citoplasma, induciendo un momento dipolar en las moléculas de los compuestos que van a ser extraídos.
- **Fotometría:** Parte de la óptica que trata de las leyes relativas a la intensidad y la densidad de la luz y de los métodos de su medición.
- **Labilidad:** Se dice de los compuestos químicos inestables que se descomponen fácilmente.
- **Maceración:** Proceso que consiste en poner en contacto la droga y el solvente durante varias horas o días con agitación ocasional dando como resultado un equilibrio de concentración entre la droga y el solvente y depende de factores que están unidos a la droga.



**ANEXO VI**  
**FOTOGRAFÍAS DE LAS REACCIONES COLORIMÉTRICAS**  
**EN *Uncaria tomentosa* NICARAGUENSE**

**Vitamina A**



**Patrón**

**Muestra**

**Patrón**

**Muestra**

Pentacloruro de Antimonio 3%  
en cloroformo

Tricloruro de Antimonio 3%  
en cloroformo



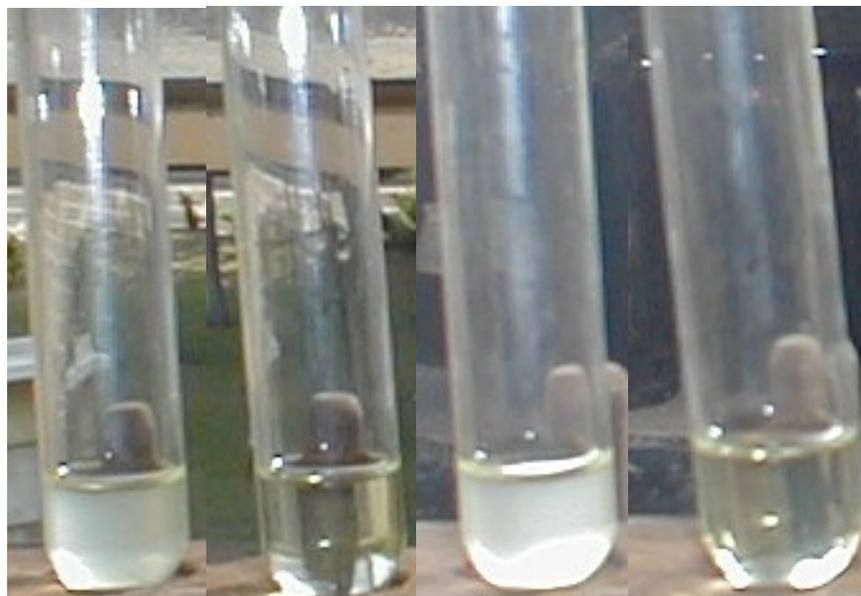
**Patrón**

**Muestra**

Ácido sulfúrico 95%



## Vitamina D



**Patrón**

**Muestra**

**Patrón**

**Muestra**

Tolueno en Butanol

Ácido perclórico 70%



**Patrón**

**Muestra**

Cloroformo, anhídrido  
Acético y ácido sulfúrico



### Vitamina E



**Patrón**

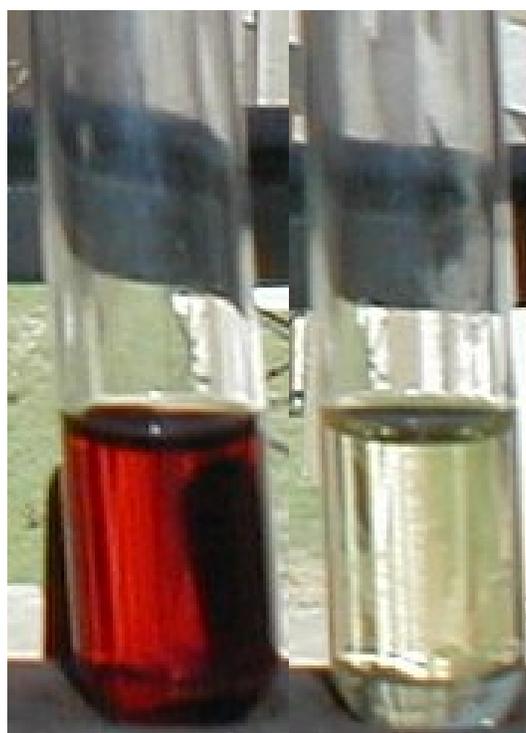
**Muestra**

**Patrón**

**Muestra**

Ácido sulfúrico 95%

Cloruro férrico 0.1% en alcohol absoluto,  
2,2-bipiridilo 0.2% en alcohol absoluto



**Patrón**

**Muestra**

Ácido perclórico 70%



### Vitamina B<sub>1</sub>



**Patrón**

**Muestra**

**Patrón**

**Muestra**

Azul de bromofenol 0.1% en  
Hidróxido de sodio 10%

Acetato de plomo 3% en  
Hidróxido de sodio 10%



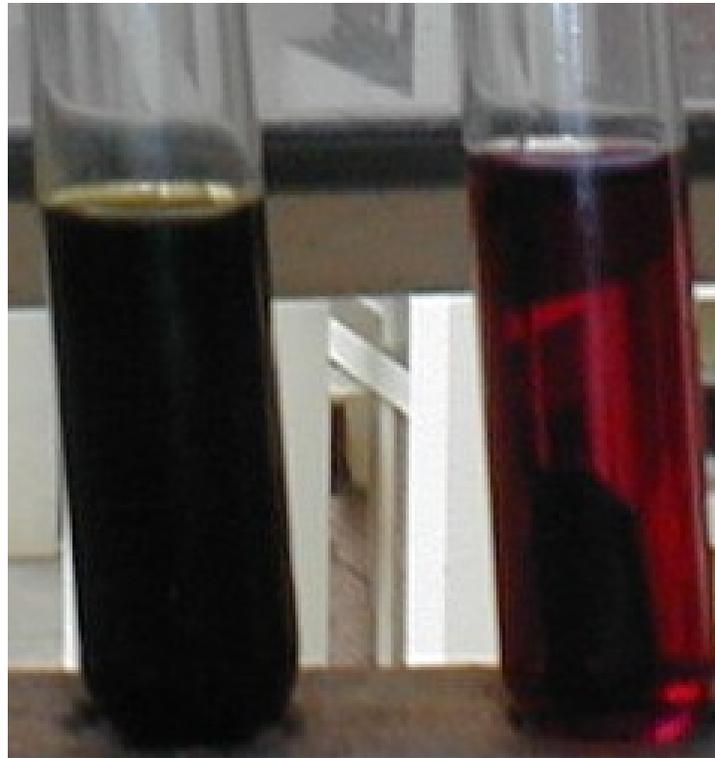
**Patrón**

**Muestra**

Ferricianuro de potasio 1% en  
Hidróxido de sodio



## Vitamina B<sub>12</sub>



**Muestra**

**Patrón**

Cianuro de potasio 3%



### Vitamina C



**Muestra**

**Patrón**

**Muestra**

**Patrón**

Nitrato de plata amoniacal 3%

Solución ácido oxálico 1% en  
2,6- diclorofenol – indofenol 3%



**Muestra**

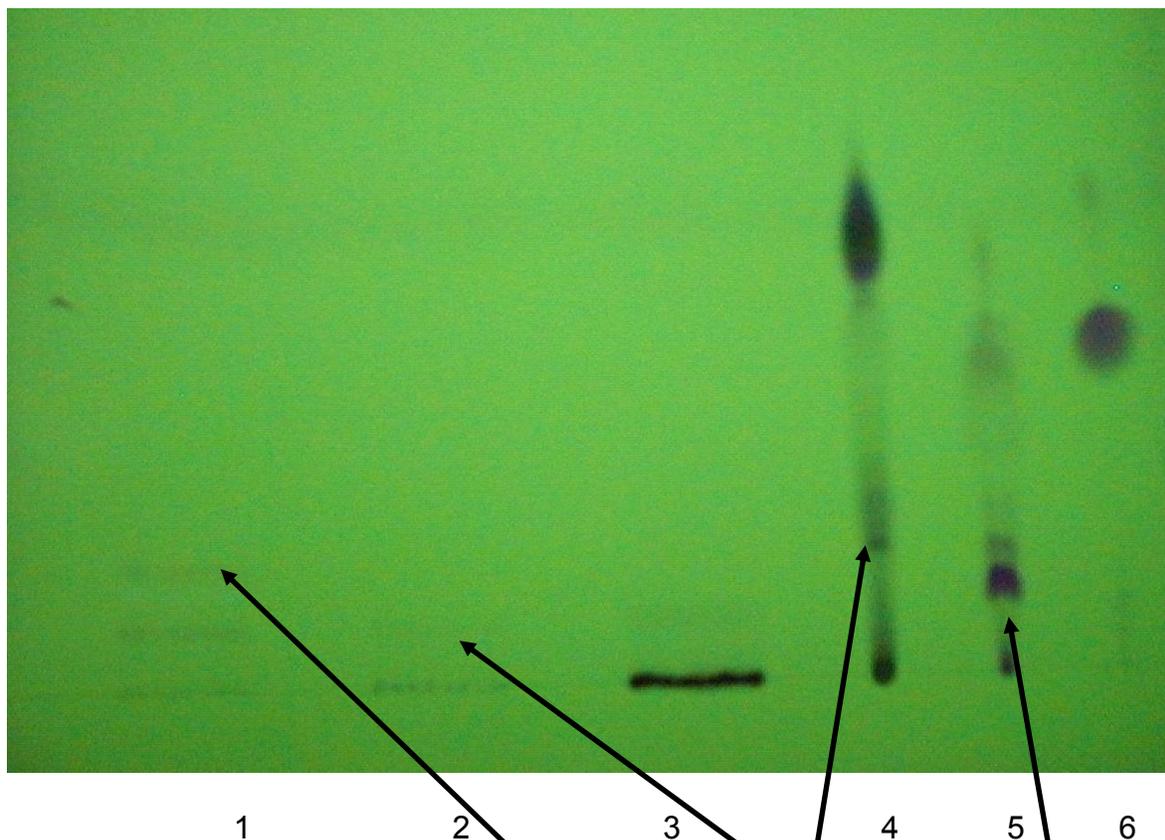
**Patrón**

Dinitrofenilhidrazina 3%  
en ácido sulfúrico



## PLACAS CROMATOGRÁFICAS

### IDENTIFICACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES EN *UNCARIA TOMENTOSA* NICARAGUENSE



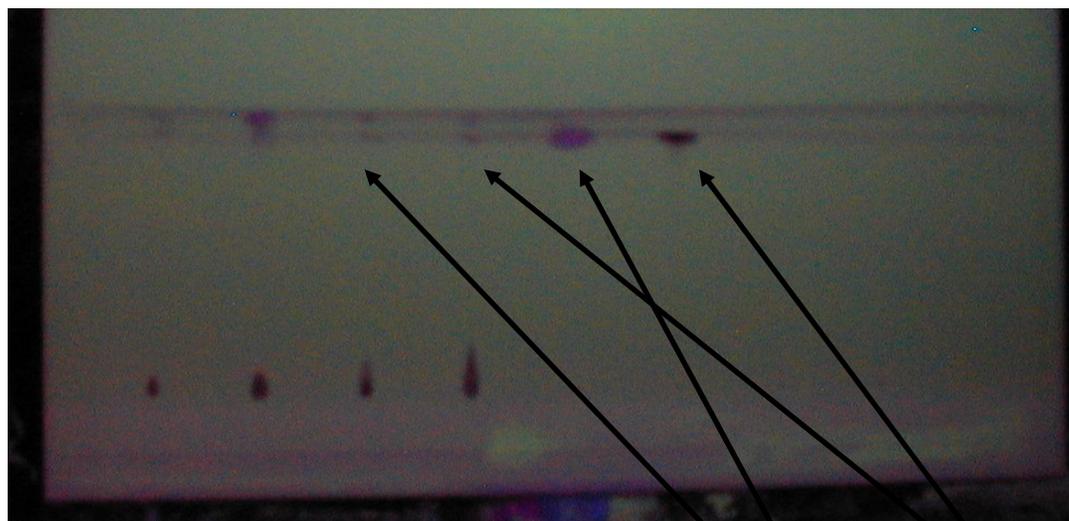
- 1 – Muestra en ciclohexano
- 2 – Muestra en ciclohexano
- 3 – Muestra en éter etílico
- 4 – Patrón vitamina A en ciclohexano
- 5 – Patrón vitamina D en ciclohexano
- 6 – Patrón vitamina E en ciclohexano

Vitamina A  $R_f = 0.170$     Vitamina D  $R_f = 0.0769$

Fase móvil: ciclohexano: éter etílico (4:1)



## IDENTIFICACIÓN DE VITAMINAS HIDROSOLUBLES EN *Uncaria tomentosa* NICARAGUENSE



1      2      3      4      5      6

- 1 – Muestra *Uncaria* peruana en agua
- 2 – Muestra *Uncaria* peruana en metanol
- 3 - Muestra *Uncaria* nicaragüense en agua
- 4 - Muestra *Uncaria* nicaragüense en metanol
- 5 – Patrón de vitamina B<sub>1</sub> en agua
- 6 - Patrón de vitamina B<sub>12</sub> en agua

Vitamina B<sub>12</sub> R<sub>f</sub> = 0.9245  
Vitamina B<sub>1</sub> R<sub>f</sub> = 0.9056

**Fase móvil:** n-propanol: agua 1:1



**IDENTIFICACIÓN DE VITAMINA B<sub>12</sub>  
EN *Uncaria tomentosa* NICARAGUENSE**



**R<sub>f</sub> = 0.9246**

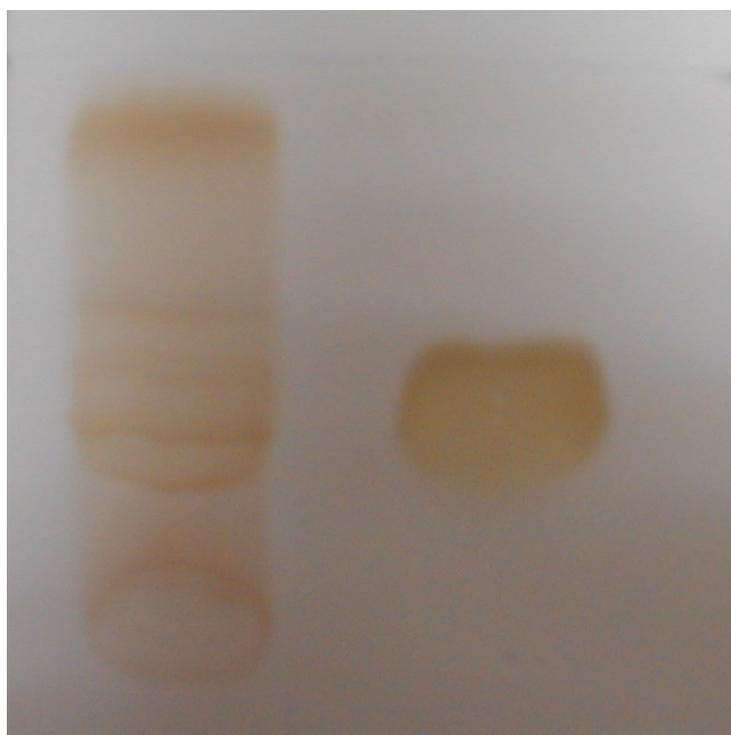
**1            2**

1. Muestra *Uncaria tomentosa* nicaragüense en agua.
2. Patrón de vitamina B<sub>12</sub> en agua.

**Fase Móvil:** cloroformo: metanol: amoniaco 6M (60:40:12).



**IDENTIFICACIÓN DE VITAMINA C  
EN *Uncaria tomentosa* NICARAGUENSE**



**$R_f = 0.4025$**

**1**

**2**

1. Muestra ***Uncaria tomentosa*** nicaragüense en agua.
2. Patrón de Vitamina C en agua.

**Fase móvil:** 2 g de ácido oxálico en 60 ml de agua, la solución se agita con 40 ml de butanol. Se separa la fase orgánica y se añade 1 mg de cianuro de potasio disueltos previamente en agua destilada.