



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA
BIOLOGÍA EXPERIMENTAL

Pigmentos naturales de algunos frutos del Valle de Tehuacán-Cuicatlán

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

GARCÍA ARIAS FERNANDA HATZIRI

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: Dra. María Margarita Canales Martínez
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios Superiores Iztacala

COMITÉ TUTOR: Dr. Cesar Mateo Flores Ortíz
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Facultad de Estudios superiores Iztacala

Dr. Manuel Jiménez Estrada
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
Instituto de Química

Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla, Estado de México

Diciembre, 2018



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

OFICIO CPCB/1134/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 1 de octubre de 2018, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **GARCIA ARIAS FERNANDA HATZIRI**, con número de cuenta **309173878**, con la tesis titulada "**Pigmentos naturales de algunos frutos del Valle de Tehuacán-Cuicatlán.**", realizada bajo la dirección de la **DRA. MARIA MARGARITA CANALES MARTÍNEZ**:

Presidente: DRA. ALMA DELFINA LUCÍA OROZCO SEGOVIA
Vocal: DR. RICARDO REYES CHILPA
Secretario: DR. CÉSAR MATEO FLORES ORTÍZ
Suplente: DR. OSWALDO TÉLLEZ VALDÉS
Suplente: DR. JORGE EDUARDO CAMPOS CONTRERAS

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 23 de noviembre de 2018.


DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a)

AGRADECIMIENTOS

Gracias al **Posgrado de Ciencias Biológicas** por brindarme la oportunidad de cursar Maestría. A la **Universidad Nacional Autónoma de México**

Por su apoyo económico a:

CONACyT con número de CVU: 776477

UNAM-PAPIIT IN212317

A mi directora de tesis:

Dra. María Margarita Canales Martínez

A los miembros del comité tutorial:

Dr. Cesar Mateo Flores Ortíz:

Dr. Manuel Jiménez Estrada:

DEDICATORIAS

Especialmente a la mujer que ha dedicado su vida a alentarme en todos mis planes y metas y ayudarme a imponerme nuevos retos. Porque es ejemplo de fortaleza, dedicación y me ha enseñado y formado en todo lo que soy y sé. Gracias mamá ...te amo.

A mi tato, que siempre esta y es el pilar de la familia, gracias por todo.

Mi hermana, Octavio, Chucho están en mi corazón siempre.

A mis amores Beba, Nora y mi Raúl

Mujeres y amigas maravillosas, Marita, Gaby, Karen, Rebe y Ana

A los laboratorios de Farmacognosia e inmunobiología

A la doctora Margarita Canales por su dedicación y al doctor Marco Aurelio

Índice

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
INTRODUCCIÓN	5
COLOR	5
COLORANTES.....	6
Antecedentes sobre colorantes y pigmentos naturales	8
TEÑIDO DE FIBRAS TEXTILES	10
Las fibras	10
Teñido	10
Mordientes	11
PIGMENTOS NATURALES.....	12
BETALAÍNAS.....	13
Ruta biosintética de las betalaínas	14
Formación del ácido betalámico	14
Betacianinas (Bc)	15
Betaxantinas (Bx)	16
Fig 6. Ruta biosintética de las betalaínas (Gandía-Herrero y García-Carmona, 2013	17
Factores de estabilidad de las Betalaínas	17
CACTÁCEAS.....	19
DESCRIPCIÓN DE ESPECIES.....	22
<i>Stenocereus stellatus (Pfeiff.) Riccob.</i>	22
<i>Opuntia decumbens (Salm-Dyck)</i>	23
<i>Pachycerus weberi (J.M. Coulter)</i>	25
ANTECEDENTES	27
OBJETIVOS	29
METODOLOGÍA.....	30
COLECTA DEL MATERIAL	30
EXTRACCIÓN.....	31
ANÁLISIS FITOQUÍMICO	31
Contenido de pigmentos betalaínas por método de espectrofotometría	31
Cromatografía en placa fina	32
Cromatografía preparativa	32

IDENTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS.....	33
HPLC-DAD	33
HPLC-MS	33
DEGRADACIÓN DE COLORANTE.....	34
Estabilidad del color al cambio de temperatura	34
Estabilidad al cambio de pH	35
EFFECTO DEL MORDIENTE SOBRE EL TEÑIDO DE LANA.....	35
TINCIÓN.....	36
EFFECTIVIDAD DEL TEÑIDO.....	36
Firmeza al lavado	36
Solidez al frote	37
Solidez a la luz	37
RESULTADOS.....	37
ESTANDARIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS	37
RENDIMIENTO	38
ANÁLISIS FITOQUÍMICO	39
Contenido de pigmentos betalaínas por método de espectrofotometría	39
Cromatografía en capa fina CCP y placa preparativa	41
Identificación de compuestos por HPLC.....	43
Degradación del colorante.....	51
Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente temperatura.....	63
Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente pH.....	64
Efectividad de los pigmentos sobre fibras de lana	66
Efectividad del mordiente sobre la coloración de la lana	66
Efectividad del teñido	68
Firmeza al lavado, solidez al frote y exposición a la luz de las fibras teñidas con el extracto de Garambullo	68
Firmeza al lavado, solidez al frote y exposición a la luz de las fibras teñidas con el extracto de Nopal serpiente	72
DISCUSIÓN.....	81
CONCLUSIONES.....	96
APENDICE 1.....	97
Apendice 2.....	101
Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente temperatura.....	101

Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente pH	101
BIBLIOGRAFÍA.....	102

RESUMEN

Las betalaínas son compuestos hidrosolubles nitrogenados y existen como sales en las vacuolas de las células vegetales, este grupo comprende aproximadamente 70 pigmentos de pesos moleculares de entre 400 y 1000 g/mol; con estructuras de glucósidos, derivados del ácido betalámico, y que se han dividido en dos grandes grupos: los rojos o betacianinas, y los amarillos o betaxantinas. Por su alto poder tintorial (dos veces más que los colorantes artificiales) y la tonalidad de color sin cambio en un intervalo amplio de pH (de 3 a 7), las betalaínas son compuestos tecnológicamente muy atractivos como colorantes naturales en la industria textil. En el presente estudio se plantea como objetivo general la extracción de betalaínas a partir de *Stenocereus stellatus* (Xoconostle), *Opuntia decumbens* (Nopal serpiente), *Pachycereus weberi* (Cardón) y *Myrtillocactus geometrizans* (Garambullo) y realizar un análisis fitoquímico. Se evaluó la estabilidad de los pigmentos sobre diferentes factores como pH y temperatura, observó la efectividad del teñido con dos mordientes y se probó la efectividad del teñido de la lana con los colorantes naturales, con lo que se obtuvieron los siguientes resultados.

Se realizó un extracto metanólico de los frutos, siendo el de *P. weberi* el que presentó mayor rendimiento con 17.77 %. Por otro lado, el mayor contenido de pigmentos es el de *O. decumbens* con 0.518 mg/g de betacianinas y el extracto del *S. stellatus* 0.253 mg/g de betaxantinas. En el análisis fitoquímico, se lograron separar los dos tipos de pigmentos por cromatografía en placa fina y preparativa del extracto de *S. stellatus*. Por el método de HPLC y HPLC-MS se lograron identificar

los compuestos mayoritarios Betanina, Iso-betanina e indicaxantina. En cuanto a la estabilidad por pH se observa la degradación por medio de espectrofotometría y colorimetría a pH básico (pH=10), siendo *O. decumbens* el más resistente a estos cambios. Por otro lado, se observa este mismo comportamiento al elevar la temperatura a partir de los 60°C, volviéndose este el factor más importante para la degradación de las betalaínas. En cuanto a la tinción de las fibras, los dos mordientes ayudan a fijar los pigmentos, aunque existe pérdida del color al someterlos a los tratamientos de resistencia, la exposición a la luz resultó la prueba más desfavorable para los tres extractos. Se propone continuar los ensayos para estabilizar los compuestos y encontrar el fijador adecuado para evitar la degradación de los pigmentos en los extractos y en las telas.

Palabras clave: Betalaínas, Cardón, Garambullo, Nopal de serpiente y Xoconostle.

ABSTRACT

Betalains are water-soluble nitrogenous compounds that exist as salts in the vacuoles of plant cells, approximately 70 pigments are known within this group with molecular weights between 400 and 1000 g/mol; with glycoside structures. Betalains are based on the chromophore known as *betalamic acid* and are divided into two groups, **betacyanins** (purple reddish) or **betaxanthins** (yellow orangish), Because of its high dyeing power (twice as much as artificial dyes) and having exhibited a broad pH stability ranging from 3 to 7, betalains are technologically very attractive compounds as natural dyes in the textile industry. The main objective of this work was to propose the extraction of betalains and to perform a phytochemical analysis from *Stenocereus stellatus*, *Opuntia decumbens*, *Pachycereus weberi* and *Myrtillocactus geometrizans*. Different factors such as pH and temperature were considered to evaluate the stability of pigments, also the effect of different mordants and the fastness of the dyeing on wool fibers.

From the analysis of methanolic extracts it was obtained a better yield from *P. weberi* fruit (17.77%), The highest content of betacyanins was found in *O. decumbens* extract, (0.518 mg/g) however *S. stellatus* extract showed the highest betaxanthin values (0.253 mg/g). The presence of both colors were identified during phytochemical analysis first by thin layer chromatography using silica gel plates getting the best results with *S. stellatus* extract, in the same way the presence of betanin, isobetanin and indicaxantin was confirmed by HPLC-DAD and HPLC-MS.

Betalains of *O. decumbens* were more stable than the other extracts in pH range from 3 to 7, the highest degradation was observed at alkaline conditions (pH 10), additionally betalains stability was observed to considerably decline over 60°C, becoming this the most important factor for degradation.

The use of mordants (salt) helps to obtain the color strenght for the dyed wool fabrics, although there is a loss of color when subjected to color fastness, light fastness was the most unfavorable test for the three extracts.

Therefore the findings on betalains stability provide innovative aproaches to natural industry coloring, thats why it is important to follow up on the studies of these pigments

Keywords: Betaínas, Cardón, Garambullo, Nopal de serpiente y Xoconostle.

INTRODUCCIÓN

COLOR

Color se define como “sensación producida por los rayos luminosos que impresionan los órganos visuales y que depende de la longitud de onda” (© Real Academia Española, 2016) es decir, la percepción subjetiva de las distintas frecuencias de onda de la luz, dentro del espectro visible, incidiendo sobre la materia.

Evolutivamente, los humanos al igual que algunas otras especies animales presentan dos tipos celulares especializados en la percepción del color: los conos y los bastones (fotorreceptores), los cuales contienen fotorreceptores que producen energía química ante la exposición de la luz. Dicha energía se transmite a través de la vía óptica hasta la corteza visual para ser interpretada (Bjerkas, 2004; Tista, 2007; Hugues et al; 2008).

Los fotorreceptores tienen pigmentos visuales, que son proteínas de membrana que absorben fotones, en el caso de los bastones, este pigmento se llama rodopsina, que es una proteína escotopsina más un cromóforo unido covalentemente a ésta, el 11-cis-retinal. Los conos presentan tres pigmentos (teoría tricromática), en general llamados conopsina, en el que el componente proteico es una fopsina más el comóforo 11-cis-retinal. Las tres isoformas de opsinas tienen una absorbancia de aproximadamente 420 nm (azul-violeta), 530 nm (verde) y 560 nm (amarillo-verde) (Figura 1) (Carlson, 1996; Rojas y Saucedo, 2012), de la mezcla o superposición entre ellos resultan las distintas gamas de colores. Gracias a estos pigmentos se

transforma la energía lumínica en energía eléctrica capaz de interpretarse en colores (Fig 1).

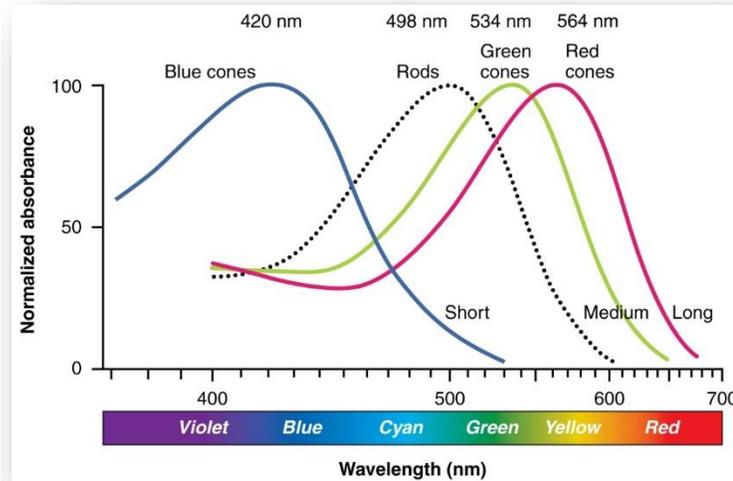


Figura 1. Absorbancia relativa de la luz a diversas longitudes de onda por los bastones y tipos de conos en la retina humana (Tomado de célula del fotorreceptor).

Son estas peculiaridades las que hacen creer que el ojo humano es uno de los órganos más complejos del cuerpo, es así como estas características evolutivas han permitido que el hombre y el color estén estrechamente ligados desde tiempos ancestrales.

COLORANTES

Para que una sustancia coloreada se comporte como colorante, además de poseer grupos cromóforos requiere la presencia de grupos auxóchromos; los primeros son capaces de dar color a la sustancia mientras que los segundos le otorgan afinidad con las fibras convirtiendo la sustancia en colorante. Importantes grupos cromóforos son el carbonilo, azo, nitroso, etileno mientras que los principales grupos

auxóchromos son el hidroxílico, amino, carboxílico y sulfuro (Ojeda, 2012) como se muestra en la Figura 2 y 3.

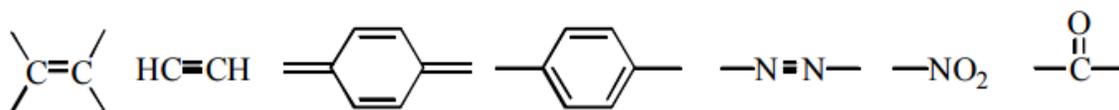


Figura 2. Cromóforos comunes. Etilénico, acetilénico, quinona, paraquinona, azo, compuestos nitro, aldehídos, cetonas y ésteres (Tomado de Pine et al., 1987)



Figura 3. Principales grupos auxóchromos. Hidroxilo, aminas (primaria, secundaria y terciaria) algunos otros grupos como sulfónico y carboxilo (Tomado de Pine et al., 1987)

En general, se pueden diferenciar entre 20 y 30 diferentes grupos de colorantes. Los grupos azo, antraquinonas, ftalocianinas y triarilmetanos son cuantitativamente los más importantes (Van der Zee, 2002).

En la industria textil son los azoicos los utilizados con mayor incidencia, cuya característica principal es el enlace insaturado de dos moléculas de nitrógeno, -N=N- (azo); se clasifican en reactivos, metálicos, dispersos, básicos, ácidos, directos y mordantes (Kuppusamy y Briones, 1997). Los productos intermedarios en la descomposición de los azoles como benzidina, 2-naftilamina y otras aminas aromáticas, son carcinógenas o de otro modo tóxicas (Chacón et al., 2002), lo que acarrea no sólo problemas para las especies que habitan los vertederos sino también para el humano y su consumo indirecto.

Antecedentes sobre colorantes y pigmentos naturales

Los primeros registros del hombre asociado al color comienzan con las culturas paleolíticas hasta los griegos, romanos, pasando por los egipcios, asirios y chinos (Contreras, 2007), un ejemplo más cercano serían las culturas mesoamericanas que dejaron testimonio de su existencia a través de la construcción de majestuosas ciudades, la elaboración de magníficos textiles, objetos artesanales y herbolaria (Galindo, 2015). Todas ellas lograron incorporar una amplia gama de colores adaptándolos a los diferentes estilos de vida y costumbres que se han conservado hasta nuestros días (Morones et al., 2015).

Estas adiciones de color, principalmente a las fibras, se realizan por medio de colorantes, pero ¿Qué es un colorante?, es una sustancia que se aplica a cualquier cuerpo para efectuar una modificación persistente del color original y que, en varias formas de su aplicación, puede ser disuelto o dispersado en un fluido, difundiéndose de este modo dentro del cuerpo a colorear.

Los colorantes utilizados en esta época se conocen como pigmentos naturales, éstos provienen de plantas superiores, algas, hongos, líquenes, de algunos insectos y organismos marinos invertebrados (Ojeda, 2012), por ejemplo, de la pulpa que recubre las semillas del fruto achiote se extraía el color rojo anaranjado, mientras que el color índigo o añil se extraía de la planta *Indigofera tinctoria* L. Dicha extracción se hacía por un proceso de fermentación de la maceración de la planta y añadiéndole una solución de cal o alumbre (Roquero, 1995), por mencionar algunos.

Fue hasta 1856 cuando se reportó el primer colorante sintético, elaborado por William Perkin y al que se le dio el nombre de malva (Easton, 1995), tiempo después, en la Segunda Guerra Mundial, la industria petroquímica experimentó un gran avance y repercutió en la producción de fibras y colorantes sintéticos utilizados en la industria del vestir. Desde entonces, estas materias desplazaron a las fibras y colorantes naturales debido a los bajos costos de producción (Wang, 2006).

En la actualidad, como una consecuencia de la industrialización, el mundo enfrenta problemas de contaminación de aire, suelos y agua en gran parte por la producción de colorantes artificiales. Hay alrededor de 100,000 colorantes y se producen aproximadamente 700,000 toneladas al año en todo el mundo (Supaka et al., 2004).

En México son pocas las empresas que se dedican a la producción de colorantes, pero si hay un gran número de ellas que los utilizan, como la industria, alimenticia, cosmética y textil entre otras, siendo esta última la que genera un impacto ecológico considerable, ya que consume dos terceras partes de la producción total de colorantes (Melgoza et al., 2004). Adicionalmente las sustancias químicas usadas, están relacionadas con la presencia de compuestos tóxicos con grupos cromóforos de alto peso molecular, los cuales al acumularse en lagos y bahías, provocan una disminución en la luminosidad de las aguas y en consecuencia inducen a la disminución en el contenido de oxígeno disponible, favoreciendo procesos de eutrofización por el aumento de carga orgánica (Robinson et al., 2001). La concentración de colorantes en el agua residual de las empresas textiles puede variar de 100 a 500 mg/L (Sponza e Işik, 2004). Las principales empresas con mayor

producción de pigmentos y colorantes en el país son Bayer de México, Clariant y Ciba Especialidades (IMTA, 2000)

TEÑIDO DE FIBRAS TEXTILES

Las fibras

En todas las fibras textiles, sus moléculas están agrupadas formando polímeros lineales: la lana y la seda son polipéptidos, las fibras vegetales y el rayón viscosa son compuestos de poliacelulosa, las sintéticas como el nylon de poliamida; de tal forma que los filamentos fibrilares están orientados a lo largo de estas macromoléculas y dependiendo de la forma y magnitud de esta orientación son determinadas sus propiedades físicas, así como su mayor o menor aptitud para la tintura (Paredes, 2002).

Teñido

El teñido de fibras textiles con colorantes se realiza en una solución acuosa denominada licor o baño. El colorante se difunde en una fase líquida para llegar hasta la fibra, que posteriormente pasa de la fase líquida a la sólida sobre la superficie de la fibra y finalmente ingresa al interior de la fibra estableciendo enlaces para fijarse dentro de la misma.

El teñido verdadero se produce solo si la coloración es relativamente permanente, es decir si no es removida fácilmente con agua o con los procedimientos normales de lavado, más aún, el color no debe desteñirse rápidamente por exposición a la luz (Dos Santos y Maier, 2008) (Figura 4).

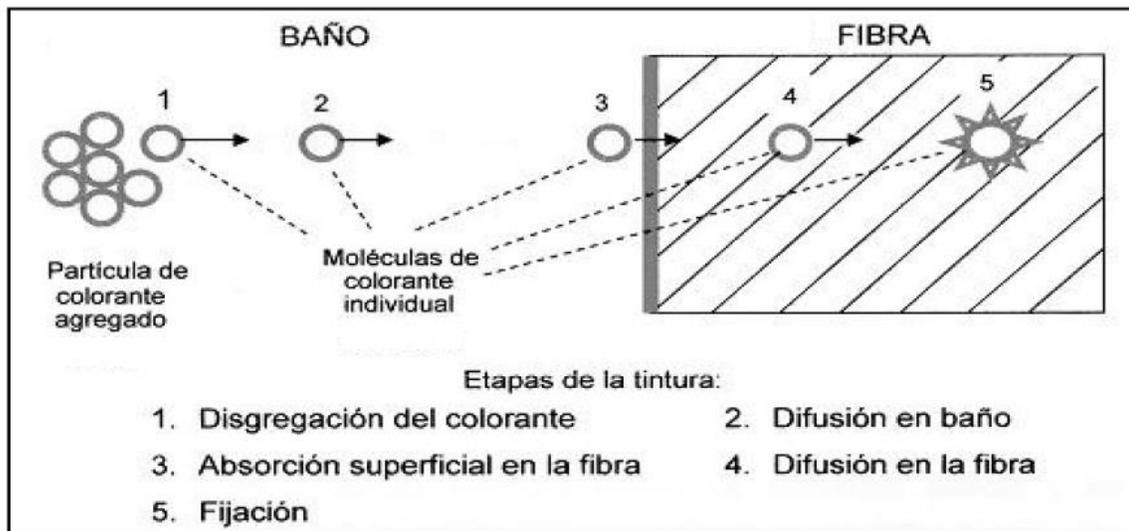


Figura 4. Etapas de teñido (Cegarra et al., 1981).

Mordientes

La mayoría de los tintes naturales requieren de ciertos fijadores o asistentes para poder teñir, estas sustancias son denominadas mordientes (es una sustancia usada en tintorería y estampado, para fijar o para desarrollar el color en la fibra), mismas que pueden ser de origen natural o sintético, las cuales facilitan la fijación del tinte a la fibra, además funcionan como elementos de uniformidad y brillo de color (Díaz y Elias, 2009).

Algunos ejemplos de mordientes son: alumbre, cobre, estaño, hierro y cremor tártaro.

La tendencia actual de la industria textil, farmacéutica, cosmética y alimentaria, es sustituir los colorantes sintéticos por los naturales (pigmentos naturales) debido al alto grado de toxicidad y contaminación que producen numerosos químicos utilizados en su obtención (Wang, 2006).

PIGMENTOS NATURALES

El color en las plantas es producido por algunos pigmentos predominantes como carotenoides y flavonoides (Brockington et al., 2011), todos estos juegan un rol importante en la biología de las angiospermas como señales visibles para atraer a polinizadores, dispersión de las semillas, protección contra estrés como el daño solar, fitopatogénesis y metales pesados, así como también se sabe que están involucrados en algunas vías de señalización interna. La mayoría de los pigmentos vegetales se localiza en el protoplasma de las células, dentro de los organelos especializados llamados plástidos, que se observan al microscopio formando pequeñas placas o agujas de estructura cristalina; en algunos casos, cuando son solubles en agua, se encuentran disueltos en las vacuolas de las células (Badui, 2006).

Uno de los grandes grupos de pigmentos que dan coloraciones de rojizas a amarillas son las antocianinas, ampliamente distribuidas en el reino vegetal y que comparten propiedades ópticas e histológicas con las betalaínas (Jain y Gould, 2015), un pequeño grupo de pigmentos nitrogenados que se restringen a algunos basidiomicetos (*Amanita* e *Hygrocybe*) y a unas cuantas familias del orden Caryophyllales excepto Caryophyllaceae y Molluginaceae (Azaredo, 2009). En los últimos años se han planteado diversas hipótesis sobre las posibles causas evolutivas de un aparente reemplazo o la mutua exclusión de estos compuestos sin llegar a aseveraciones concluyentes, aunque se ha demostrado a nivel bioquímico que las enzimas encargadas de la producción de antocianinas no son expresadas en las plantas que producen betalaínas (Brockington et al., 2011), sin embargo se

sabe que ambos pigmentos tienen funciones protectoras en cuanto a la incidencia solar, sequía, salinidad y estrés oxidativo (Nakashima et al; 2011, Hugues et al., 2013, Jain y Goul, 2015). Por otro lado, se sugiere que las betalaínas podrían tener beneficios adicionales en plantas en ciertos ambientes propensos a la sequía por su estabilidad vacuolar en pH ácidos (3-7), ya que estas al experimentar estrés hídrico cambian su modo de asimilación de carbono de C3 a CAM (Strack, 2003).

BETALAÍNAS

Las betalaínas son compuestos hidrosolubles y existen como sales en las vacuolas de las células vegetales (Sánchez, 2006), este grupo comprende aproximadamente 70 pigmentos de pesos moleculares de entre 400 y 1000 g/mol; con estructuras de glucósidos, derivados del ácido betalámico, y que se han dividido en dos grandes grupos: los rojos o betacianinas (Bc), y los amarillos o betaxantinas (Bx). La forma general de las betalaínas representa la condensación de una amina primaria o secundaria con ácido betalámico (Stintzing et al., 2001; Esquivel, 2004). El cromóforo de la betalaína se puede describir como un compuesto protonado 1,2,4,7,7-pentasustituido y el sistema 1,7-diazaheptemetina (Piatelli et al., 1976) como se muestra en la Figura 5.

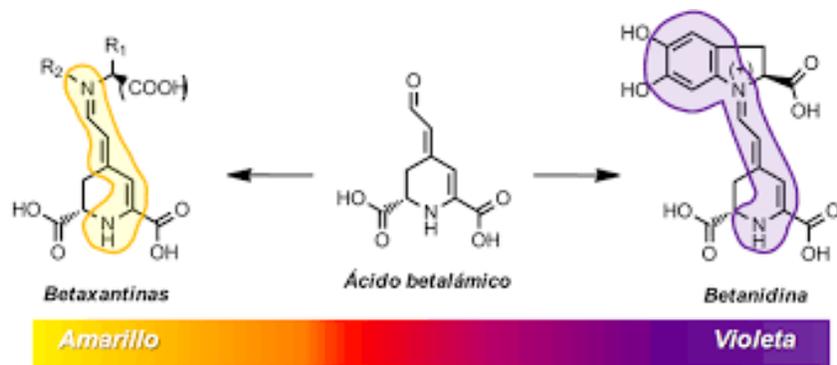


Figura 5. Estructura química de las betalainas (García-Carmona, 2016).

Ruta biosintética de las betalainas

Existen diversas teorías e hipótesis sobre la ruta biosintética para la formación de las betalainas, sin embargo, aún no han sido totalmente descritos todos los pasos de la ruta, por lo que se muestra un esquema completo de las reacciones reportadas hasta el momento (Gandía-Herrero y García-Carmona, 2013). (Figura 6)

Formación del ácido betalámico

La biosíntesis de las betalainas comienza con hidroxilación de L-tirosina a L-DOPA mediante la acción de la monofelasa de la enzima tirosina, como se muestra en la figura 6 (1). La acumulación de la L-DOPA que es necesaria para la formación del ácido betalámico (2) requiere detener la oxidación de este a O-DOPA-quinona (5) por la actividad de la difenolasa de la misma enzima. Esta acción puede ser necesaria para la formación de alguna parte de la estructura de las betacianinas, de esta forma se consume todo el L-DOPA como sustrato, en consecuencia la presencia de ácido ascórbico o un agente reductor análogo es necesario para transformar O-DOPA-quinona de regreso a L-DOPA (6) o que lo hace disponible para los siguientes pasos, es entonces L-DOPA el sustrato para la segunda enzima de la ruta 4,5-

DOPA estradiol-dioxigenasa que cataliza la unión del estradiol de L-DOPA para formar el intermediario 4,5-seco-DOPA.

El ácido betalámico se deriva del 4,5-seco-DOPA por una condensación intramolecular espontánea entre el grupo amino presente en L-DOPA y el grupo aldehído producido enzimáticamente (3)

Betacianinas (Bc)

Son pigmentos de color rojo violeta, son más estables que las betaxantinas, se consideran glucósidos, su principal componente es la betanina (hasta un 95 % del total de las betacianinas en el betabel). Todas las betacianinas pueden ser derivadas de dos núcleos básicos, la betanidina y la isobetanidina, por glicosidación de uno de los grupos hidroxilos localizados en la posición cinco o seis. En las betacianinas, la conjugación se extiende a un sustituyente aromático y el cromóforo muestra un desplazamiento batocrómico hasta 540 nm (Human, 2014).

Se forman mediante la condensación de los derivados libres de L-DOPA, que en ausencia de agentes reductores se transforma por la tirosinasa a O-DOPA-quinona usando oxígeno molecular (5). Posteriormente el grupo amino de O-quinona sufre un ataque nucleofílico intramolecular en el anillo conduciendo una ciclación espontánea que forma la molécula leuko-DOPA-cromo, también conocida como ciclo-DOPA (7). De forma alterna la conversión de L-DOPA a ciclo-DOPA puede ocurrir por el citocromo P450.

Ha sido propuesto que ciclo-DOPA reacciona con el ácido betalámico de la misma manera que cualquier otra molécula con un grupo amino. El pigmento formado es

betanidina, que es el paso intermediario en la formación de betacianinas (siendo la ruta más aceptada)

La betanidina puede ser transformada a betanina por la enzima betanidina 5-O-glucosiltransferasa, que incorpora un residuo de glucosa al grupo hidroxilo en la posición 5 (19). La glucosilación y acilación promueve la variedad de betacianinas identificadas en los extractos naturales (Strack, 2013).

Betaxantinas (Bx)

Son pigmentos amarillos relacionados estructuralmente con las betacianinas, absorben a una longitud de onda máxima de 480 nm. El compuesto prototipo que representa la presencia natural de betaxantinas es la indicaxantina, aislada del fruto del cactus *Opuntia ficus-indica*. Son mucho más lábiles que las betacianinas en relación 1:10 (Human, 2014)

Se obtienen por la condensación del ácido betalámico con aminas o aminoácidos (4). Se asume que la reacción ocurre espontáneamente entre el grupo amino de la amina y el grupo aldehído del ácido betalámico para formar la amina correspondiente.

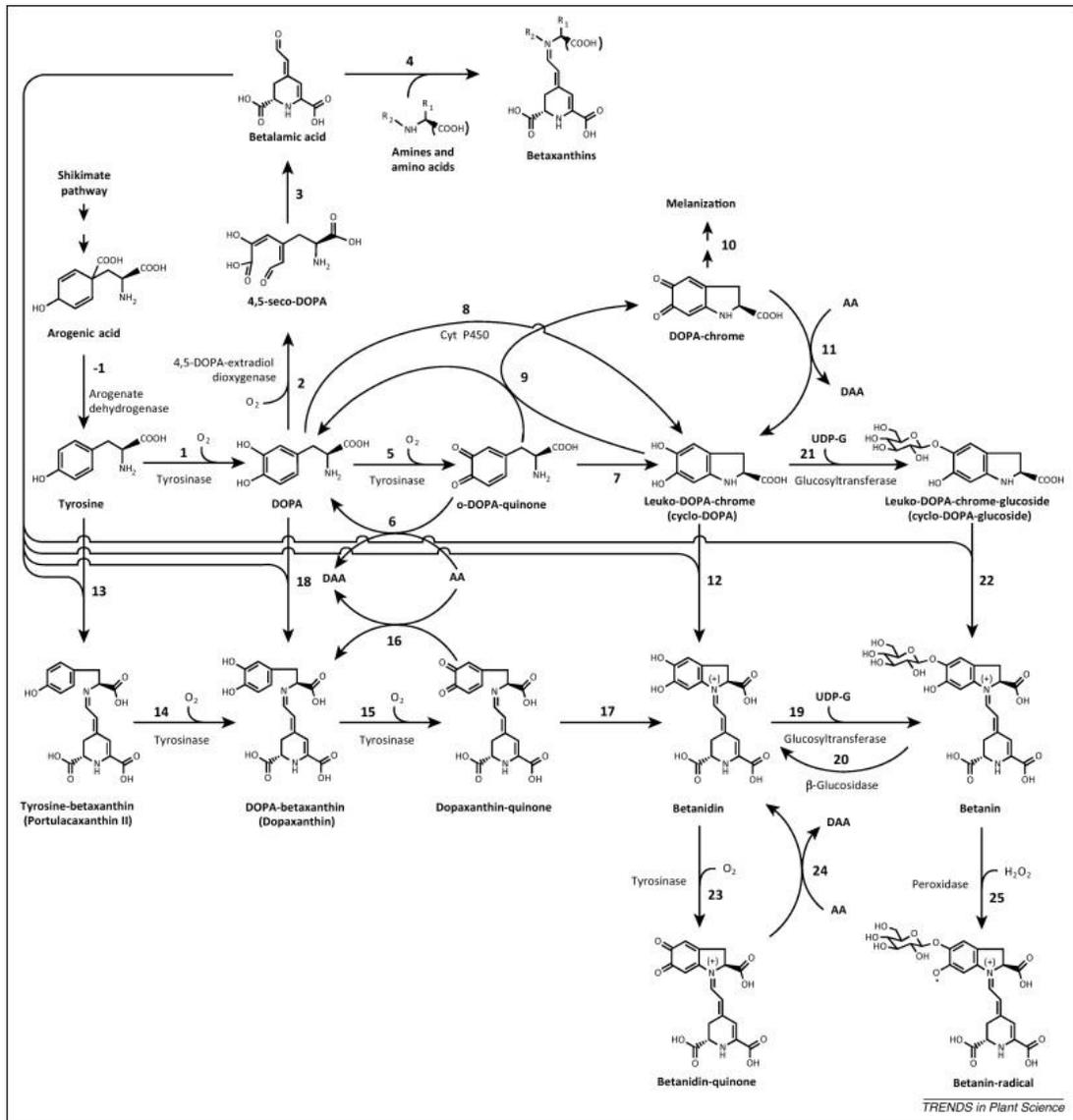


Fig 6. Ruta biosintética de las betalainas (Gandía-Herrero y García-Carmona, 2013)

Factores de estabilidad de las Betalainas

La estabilidad de las betalainas es influenciada por el pH, la temperatura, la luz, contacto con metal, la actividad de agua y la presencia de oxígeno (Orellana, 2015)

pH: Las betalainas son relativamente estables a lo largo de un amplio rango de pH que va de 3 a 7 sin experimentar cambios de color, fuera de este rango el color decrece. El pH óptimo para la estabilidad de las betalainas del betabel, en presencia

de oxígeno se encuentra a pH 5.5-5.8, mientras que en condiciones anaeróbicas a pH 4.0-5.0 (Stintzing et al., 2005)

Temperatura: La temperatura es un factor crítico en la estabilidad de las betalaínas. Al calentar soluciones de betanina se produce una reducción del color rojo característico de este pigmento y surge la aparición de un color ligeramente marrón. La degradación térmica de la betanina en presencia de oxígeno sigue una cinética de primer orden, si se calienta la betanina a altas temperaturas (mayores de 60°C) por tiempos prolongados (mayores a una hora), se acelera la hidrólisis de este compuesto en solución, produciendo ácido betalámico y el ciclodopa-5-*O*-glucósido como productos intermedios; sin embargo, esta reacción es parcialmente reversible dependiendo del pH (Sánchez, 2006; Betancour, 2015)

Luz: Existe una relación inversa entre la estabilidad de las betalaínas de betarraga y la exposición a la luz. La degradación de betalaínas sigue una cinética de primer orden que es oxígeno dependiente, ya que los efectos de la exposición a la luz son insignificantes bajo condiciones anaerobias (Attoe y Von Elbe, 1981)

Metales: Varios estudios han demostrado que los iones ferrosos, férrico y cúprico promueven la decoloración del pigmento extraído del betabel. Todas las reacciones de degradación se aceleran por acción catalítica de algunos metales, principalmente cobre (Badui, 2006)

Agua: La betanina se vuelve más inestable a medida que aumenta la actividad de agua y el contenido de humedad del alimento. La degradación de betanina requiere la hidrólisis de la molécula de betanina a Cilo-5-*O*-DOPA y ácido betalámico. Esta

reacción es altamente dependiente de la disponibilidad de agua, por consiguiente, un decremento en la actividad del agua corresponde a una menor degradación de betanina. Fue especulado que, junto con el decremento de agua disponible, se reduce la movilidad de reactantes y la solubilidad del oxígeno molecular (Badui, 2006)

Por su alto poder tintorial (dos veces más que los colorantes artificiales) y la tonalidad de color sin cambio en un intervalo amplio de pH (de 3 a 7), las betalainas son compuestos tecnológicamente muy atractivos como colorantes naturales en alimentos (Von Elbe, 1975; Cai et al., 1998; Stintzing et al., 2001; Sánchez, 2006).

La suma de hechos mencionados anteriormente nos incita a mirar hacia México, ya que nuestro país cuenta con una gran diversidad de flora, especialmente de Cactáceas, que son plantas originarias del continente americano, distribuidas principalmente en las zonas áridas y semiáridas; las características ecológicas sobre la base del clima, topografía y suelos peculiares existentes en México, lo ubican como el país con mayor cantidad de especies de esta familia (Alanís y Velazco, 2008).

CACTÁCEAS

La familia Cactaceae agrupa a cerca de 2000 especies, tan solo en nuestro país se encuentran 913 taxones, conformando 669 especies, las cuales se encuentran agrupadas en 63 géneros, y se reconocen 244 subespecies. De los cuales el 80 por ciento son endémicos (Jiménez, 2011). Algunas de las regiones de alta diversidad florística de cactáceas en México son el valle de Tehuacán-Cuicatlán, localizado en

los estados de Puebla y Oaxaca, el Altiplano Potosino y sur de Nuevo León, los valles intermontaños de Hidalgo y Querétaro y los bosques deciduos y espinosos de Tehuantepec (Becerra, 2000).

A pesar de esta gran diversidad, un gran número de especies se encuentran amenazadas, por ejemplo, La Norma Oficial Mexicana (NOM- 059-ECOL-2001) enlista 255 taxones, el Libro Rojo de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza incluye 65 y la Convención sobre Comercio de Especies Amenazadas de Flora y Fauna Silvestre (CITES), enlista 41 taxones. Las principales causas de riesgos son: el cambio de usos del suelo, la introducción de especies exóticas, y la colecta directa de ejemplares (Jiménez, 2011). Estas son algunas de las razones por las que representan un grupo de interés para ser estudiadas.

Dentro del gran grupo de especies conocidas y que se tiene registro hasta la fecha se encuentran alrededor de 35 que tienen potencial como cultivo para la obtención de frutos, vegetales o forraje (Mizrahi et al., 1997), las cactáceas comestibles se pueden clasificar en 3 tipos: las tunas, las pitayas (trepadoras) y las pereskias (columnares) (Esquivel, 2004). Aunque en la actualidad se presentan grandes pérdidas por falta de una comercialización efectiva, todo esto hace que en este trabajo se considere la extracción de los pigmentos a partir de estos frutos como una alternativa que podría ayudar a un mayor aprovechamiento, beneficiándose así los productores y comercializadores, de la misma forma la industria alimenticia, textil o cosmética.

Stenocereus stellatus (Pfeiff.) Riccob., *Opuntia decumbens* (Salm–Dyck), *Pachycerus weberi* (JM Coulter) y *Myrtillocactus geometrizans* (Martius Console) (Figura 3) son especies de cactáceas que se distribuyen dentro del valle de Tehuacán-Cuicatlán que se proponen en este estudio para la extracción de pigmentos por los llamativos colores de sus frutos y a los que se les podría dar un mayor aprovechamiento dentro de la región.



Figura 7. *Pachycerus weberi* (arriba, izquierda), *Stenocereus stellatus* (arriba, derecha), *Opuntia decumbens* (abajo, izquierda), y *Myrtillocactus geometrizans* (abajo, derecha) Imagen original (Imagen original, Biól. Fernanda Hatziri García Arias)

DESCRIPCIÓN DE ESPECIES

De acuerdo con Reyes et al en 2004

Stenocereus stellatus (Pfeiff.) Riccob.

Subfamilia: Cactoideae

Sinonimia: *Cereus stellatus* Pfeiff.

Nombre común: “Xoconostle”, “Xonostli” y “Pitaya Xoconostle”

Descripción: árbol o arbusto ramificado desde la base y que alcanza un tamaño de 2 a 4 m de altura. Forma un tronco corto. Los brotes de color verde oscuro a verde azulado, los brotes verticales tienen un diámetro de 7- 10 cm. Tiene de ocho a doce costillas romas, redondeadas y se articula en las cúspides que son de hasta 2 cm de alto. La mayoría tiene en las areolas tres espinas centrales grises de 2 a 6 cm de largo. Las siete a nueve espinas radiales son grises y tienen una punta más oscura, son más cortas que las espinas centrales. La flor es tubular en forma de campana estrecha, de color rosa brillante y aparecen cerca de la punta de crecimiento y abren por la noche. Miden 4.5-9.0 cm de largo. Los frutos son esféricos, verdes o rojos y alcanzan un diámetro de 5.0 a 6.0 centímetros. La carne es de color blanco o rojo.

Distribución: Morelos, Oaxaca y Puebla

Usos: Los frutos son comestibles se utilizan para la elaboración de bebidas alcohólicas, los tallos se emplean para leña o forraje. Las frutas se recolectan de

poblaciones silvestres y también se cultivan para el consumo doméstico y el comercio local.



Figura 8. *Stenocereus stellatus*

Imagen original (Biol. Fernanda Hatziri
García Arias).

***Opuntia decumbens* (Salm-Dyck)**

Subfamilia: Opuntioideae

Nombre común: “Nopal serpiente”, “Nopal de coche loco”,

Descripción: Es una planta decumbente de 30 a 40 cm de alto, que forma matorrales extensos. Sus pencas miden de 10 a 20 cm de largo, son planas, aterciopelados y están provistas de gran cantidad de “aguates” de color amarillo. Posee de 1 a 3 espinas amarillas delgadas. En la base de las aréolas se observan manchas de color morado cuando habitan en sitios expuestos al sol. Sus flores son en forma de campana, miden 5 cm de diámetro, de color amarillo cuando nacen y cambian a rojo cuando maduran. Sus frutos son globosos, de 3 cm de diámetro, cubierto por numerosos aguates y con pulpa dulce, que tiñe como sangre.

Distribución: Chiapas, Colima, Durango, Guerrero, Jalisco, Michoacán, Morelos, Nayarit, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora y Tamaulipas.

Usos: Los frutos son comestibles, aunque existe la creencia de que el consumir la pulpa del fruto puede originar locura; quizás esté relacionado con el malestar que provoca al consumir los aguates.



Figura 9. *Opuntia decumbens*

Imagen original (Biol. Fernanda Hatziri García Arias)

***Pachycerus weberi* (J.M. Coulter)**

Subfamilia: Cactaceae

Sinonimia: *Cerus weberi* J.M. Coulter, *Lemairocerus weberi* (J.M. Coulter) Britton
y *Rose Ritterocerus weberi* (J.M. Coulter)

Nombre común: “Cardón”, “candelabro”, “chico”.

Descripción: Es una planta columnar en forma de candelabro, que mide hasta 15 m de altura. Sus ramas forman brazos que miden 20 cm de diámetro, de color azul grisáceo. Presenta de 8 a 10 costillas y surco inter-areolar. Posee espinas grisáceas (las jóvenes rojizas) de 6 a 12 radiales y 1 central. Posee flores nocturnas blanquecinas, infundibuliformes y que miden de 8 a 10 cm de alto. Florece de febrero a abril y son polinizadas por murciélagos. Sus frutos son globosos, dehiscentes, de 6 a 7 cm de diámetro y cubiertos de espinas amarillas rígidas; presentan pulpa rojiza, jugosa y dulce. Los ejemplares adultos son muy longevos, alcanzando más de 500 años de edad.

Distribución: Guerrero, Puebla, y Oaxaca. Es la cactácea emblemática de la región de Cuicatlán, en donde se encuentran las poblaciones más densas.

Usos: La pulpa de sus frutos es empleada para curar pulque, agua fresca, helados y paletas. Con sus semillas se preparan salsas tortillas y pinole. Su madera seca se usa como leña. Las flores caídas y las cascaras sirven como forraje.



Figura 10. *Pachycerus weberi*

Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García Arias)

***Myrtillocactus geometrizans* (Martius Console)**

Subfamilia: Cactoideae

Sinonimia: *Cerus geometrizans* Martius, *Cerus pugioniferus* Lemaire

Nombre común: “Padre nuestro”, “Garambullo”

Descripción: Es una planta columnar ramificada, que llega a medir hasta 4 m de alto. Tiene un tronco muy corto con ramas azulosas articuladas que poseen 5 a 6 costillas. Presentan 5 espinas radiales de 3 cm de largo, planas y rojizas cuando jóvenes y una central de hasta 7 cm de largo en forma de daga. Sus flores son

blanquecinas y diurnas. Florece durante los meses de enero a mayo. Los frutos son globosos, de color púrpura y miden de 1 a 2 cm de diámetro.

Distribución: Desde Sonora a Tamaulipas hasta Oaxaca; abunda en los mezquiales del centro de México.

Usos: Esta planta se utiliza para delimitar propiedades y como ornamental. Sus frutos son comestibles frescos o deshidratados, también se utilizan para elaborar licor y mermelada.



Figura 11. *Myrtillocactus geometrizans*

Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García Arias)

ANTECEDENTES

En años recientes se han caracterizado diferentes pigmentos de algunos frutos de cactáceas como el reportado por Sánchez en 2006, en donde realiza una extracción y caracterización de los principales pigmentos de *Opuntia joconostle* (F.A.C. Weber) por diferentes técnicas como cromatografía en columna, TLC, UV-VIS y HPLC encontrando que las principales betalaínas fueron betanina, isobetanina, betanidina o filocactina e isobetanidina y que éstas se mantienen estables a temperatura

ambiente y en pH ácido-neutro (3-7). Por otro lado, Soriano-Santos et al. (2007), realizaron una caracterización parcial del fruto de *Escontria chiotilla* (Weber), conocido comúnmente como jiotilla en el que se encontraron betaxantinas como vulgaxantina I, vulgaxantina II e indicaxantina y en el caso de las betacianinas solo se observó betanina. En años recientes, Gonzalez-Aguayo et al. (2014) evaluaron la concentración de betalaínas y estabilidad del color a diferentes pH y temperaturas de 9 genotipos de tunas rojas (*Opuntia* spp.), en el que no encuentran correlación entre la concentración de betalaínas y la estabilidad al color por estos dos factores, son 3 genotipos (orejón, tapón aguanoso y sangre de toro), los que presentan mayores características para ser una fuente de pigmentos naturales para alimentos. Lo que confirma López (2014), cuando examinó el extracto de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* (L. mill) “tuna morada” y presentó una actividad antioxidante de 63.56%, además de ser probado como pigmento alimenticio en crema chantilly en la que fue estable hasta los 7 días en el pH de 3 a 7.

Las betalaínas extraídas de frutos de cactáceas se han empleado principalmente en el área de los alimentos como colorantes naturales; en la formulación de crema, yogurt de fresa, bebidas deshidratadas, bebidas frías y gelatinas (Vitoria-Matos et al., 2001), pero aún no se ha probado su efectividad en la industria textil por lo que se han planteado los siguientes objetivos.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Realizar un análisis fitoquímico del extracto metanólico de los frutos y obtener los pigmentos de *Stenocereus stellatus*, *Opuntia decumbens*, *Pachycerus weberi* y *Myrtillocactus geometrizans*

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Relacionar la susceptibilidad de degradación de los colorantes bajo diversas condiciones (pH y temperatura) con la naturaleza química de los componentes.
2. Observar el efecto del mordiente sobre la coloración obtenida al teñir lana y los materiales elegidos.
3. Probar la efectividad del teñido de la lana con los colorantes naturales seleccionados.
4. Purificar y caracterizar los pigmentos de la especie que muestre los mejores resultados.

METODOLOGÍA

COLECTA DEL MATERIAL

Las colectas se realizaron durante el mes de junio y enero en el municipio de San Antonio Nanahuatipam, Oaxaca, en la región de Teotitlán. Se localiza entre los 18°08' de latitud norte y los 97°07' de longitud oeste, con una altitud de 760 msnm (INAFED).

Colinda al norte con el estado de Puebla; al sur con Santa María Tecomavaca; al este con Teotitlán de Flores Magón y con San Juan de los Cués; al oeste con Tepelmeme Villa de Morelos (Figura 14).

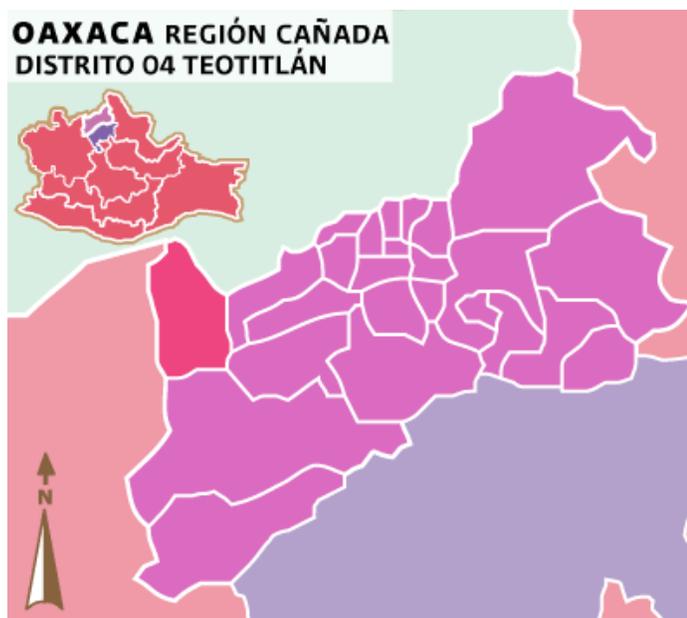


Figura 12. San Antonio Nanahuatipam, Oaxaca, región de Teotitlán (Tomado de INAFED) .

El clima es caluroso semidesértico con una temperatura promedio anual de 25° a 30°C; las lluvias se presentan en verano; sopla un viento del este en los meses de febrero y marzo.

EXTRACCIÓN

Previo a la extracción del pigmento, los frutos fueron limpiados para remover la mayoría de las espinas y así tener un mejor manejo y mantenerlos en congelación. Una vez descongelado el fruto, se retiró la cáscara y se maceró en metanol a temperatura ambiente, posteriormente, el macerado se filtró y se extendió en platos para permitir la evaporación del solvente.

ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Contenido de pigmentos betalainas por método de espectrofotometría

(Nilson, 1970)

Para llevar a cabo dicha técnica, primero se pesó 0.05 g de extracto crudo de cada uno de los frutos y se le adicionaron 3 mL de metanol al 80 % (v/v). Posteriormente se filtró el metanol para determinar el contenido de betacianinas y betaxantinas con absorbancia de 538 y 483 nm, respectivamente, por medio de un espectrofotómetro de UV-Vis (DU 640 Spectrophotometer, Beckman, Brea).

La solución de metanol al 80% se utilizó como blanco. Se realizaron las diluciones pertinentes para que el valor de absorbancia sea inferior a 0.6. Finalmente, los resultados se obtuvieron mediante la siguiente expresión:

$$Bx \text{ (mg/g)} = \frac{Ax F d x P M x V}{e x P x L}$$

Dónde:

Bx = contenido de betacianinas o betaxantinas

A = absorbancia a 538 nm para betacianinas y 483 nm para betaxantina

Fd = factor de dilución al momento de leer en el espectrofotómetro

PM = peso molecular (Betanina = 550 g/mol o Indicaxantina = 308 g/mol)

V = volumen del extracto (L)

e = coeficiente de extinción molar (60,000 L/mol.cm para betaninas, 4,8000 L/mol.cm para betaxantinas)

L = longitud de la celda (1 cm)

P = peso de muestra (g)

Cromatografía en placa fina

Se utilizaron placas de aluminio recubiertas de gel de sílice (silica gel 60 GF254, Merck). La fase móvil que se empleó para separar los pigmentos fue isopropanol:etanol:agua:ácido acético (6:7:6:1)

Cromatografía preparativa

Se utilizaron placas de Silica gel (Macherey-Nagel, DC-Fertigplatten SIL G-100 UV 254) con grosor de 1mm, La fase móvil empleada fue isopropanol:etanol:Agua:Ácido acético (6:7:6:1)

IDENTIFICACIÓN DE BETALAÍNAS

La caracterización química de las betalainas se llevó a cabo mediante dos análisis, el primero fue una cromatografía líquida de alta resolución con detector de arreglo de diodos (HPLC-DAD) y finalmente una HPLC acoplado a espectrometría de masas (HPLC-MS)

HPLC-DAD

Las muestras se analizaron en un equipo Hewlett-Packard HP modelo 1100 series (Hewlett-Packard, Wilmington DE, USA), HPLC equipado detector de diodos (DAD) 1100 operado con ChemStation A0903 bajo los siguientes parámetros: Se utilizó una columna Discovery C-18, de 250 x 4.6 mm, tamaño de partícula de 5µm. La elusión se realizó con un gradiente lineal, donde se utilizó una mezcla de agua y ácido fórmico 1% v/v (A) y metanol (B) con flujo de 1mL/min. El gradiente se inició con 100% de la solución A por 10 min, seguido de un gradiente lineal de 0% B a 30% B en 30 minutos, y finalmente un gradiente lineal de 30% B a 100% B en 20 minuto. El volumen de inyección de la muestra fue de 20 µL. Betaxantinas y betacianinas fueron monitoreadas a 482 y 535 nm aproximadamente.

HPLC-MS

Las lecturas se realizaron utilizando un LC Agilent 1200 Infinity acoplado a un TOF Agilent 6230 con una fuente Agilent Dual ESI (ESI SG14289023) con un software Mass Hunter Workstation, funcionando en modo de ionización negativa. El voltaje capilar fue de 4000 V; se usó nitrógeno como el gas seco, la temperatura de este fue de 250 °C; a una velocidad de flujo de 6 l/min; la presión del nebulizador fue de

60 psi; el fragmento fue de 200 V; El rango de MS fue 50-1300 m/z ; La tasa de adquisición de MS fue de 1 espectro/s

La separación cromatográfica se realizó usando una HPLC (Infinity Series 1200, Agilent Technologies, Alemania), equipada con una columna Kinetex 2.6 μ , C1800A (150 x 2.1 mm) (Phenomenex, EE. UU.). La temperatura de la columna se mantuvo a 25 ° C. Se utilizó el siguiente programa de degradado, junto con una fase móvil que consiste en: agua acidificada al 1% con ácido fórmico (v/v, eluyente A) y metanol (Eluyente B). Los compuestos fueron separados isocráticamente con 100% (A), seguido de un gradiente lineal de 0% a 10% (B) en 20 min y un gradiente lineal de 10% (B) a 30% (B) en 10 minutos y finalmente un gradiente lineal de 30% (B) a 100% (B) en 5 min, el volumen de inyección fue de 10 μ L (Catellanos-Santiago y Yahia, 2008)

DEGRADACIÓN DE COLORANTE

Estabilidad del color al cambio de temperatura

(Moßhammer et al., 2005).

El pigmento se sometió a diferentes temperaturas (40°, 60°, 80° y 100°C) utilizando una parrilla con control de temperatura. Una vez alcanzada la temperatura deseada, se midió el cambio de color con un colorímetro de reflexión (WR Series colorimeter, model WR-10, color space CIELAB) y mediante un barrido UV-Vis en un intervalo de 400 a 600nm con la ayuda de un espectrofotómetro.

Estabilidad al cambio de pH

El pigmento se sometió a diversos cambios de pH, con el fin de observar los posibles cambios de color. Para llevar a cabo el cambio de pH se utilizó ácido cítrico, donde el rango fue de pH 3 a pH 7. Posteriormente, se determinó el cambio de color con un colorímetro de reflexión y mediante un barrido UV-Vis con la ayuda de un espectrofotómetro de UV-Vis (DU 640 Spectrophotometer, Beckman, Brea).

Los resultados se obtuvieron evaluando la diferencia entre el color inicial y el color con cambio de pH, el cual se conoce como Delta E (ΔE) o error delta.

$$\Delta E^* = (L^*_1 - L^*_2)^2 + (a^*_1 - a^*_2)^2 + (b^*_1 - b^*_2)^2$$

Donde:

L^* = luminosidad

a^* = coordenadas rojo/verde (+ a_1 indica rojo, - a_2 indica verde)

b^* = coordenadas amarillo/azul (+ b_1 indica amarillo, - b_2 indica azul)

EFFECTO DEL MORDIENTE SOBRE EL TEÑIDO DE LANA.

Lana: Se cortaron fibras del mismo tamaño y se lavaron con jabón neutro para eliminar los residuos.

Mordiente: Se utilizaron dos tipos de mordientes, los cuales se agregaron cuando la lana estuvo limpia:

-Alumbre: Sulfato aluminico ($Al_2(SO_4)_3$).

Se agregó 20% del peso de la lana (20 g por cada 100 g de fibra)

-Cremor tártaro: Tartrato ácido de potasio ($KC_4H_5O_6$).

Se agregó 6 % del peso de la lana (6 g por cada 100 g de fibra)

Para mordentar la lana, primero se hirvió un litro de agua destilada, a la cual se le agregó el mordiente y se dejó disolver durante 45 min, una vez transcurrido este tiempo, se agregó la fibra y se mantuvo sumergida durante una hora a punto de ebullición. Posteriormente, la lana se dejó reposar por 12 horas y finalmente se dejó secar a temperatura ambiente

TINCIÓN.

Una vez mordentada la lana, se colocó en un recipiente con agua a 80° C, a la cual se le agregó la mínima cantidad de colorante (1.5 g/250 ml de agua) y se llevaron a cabo las pruebas pertinentes

EFFECTIVIDAD DEL TEÑIDO.

La evaluación de la firmeza del color, se realizó de acuerdo con el método de Paredes (2002).

Firmeza al lavado

Se pesaron 5 gramos de muestra (lana teñida) y se colocaron entre dos telas de algodón al 100% que funcionaron como testigo, las cuales se cosieron en forma de "Sandwich". Dichas telas tuvieron el mismo peso que la muestra para obtener una relación 1:1

Posteriormente, se lavó la muestra cocida durante 10 min en un recipiente con agua y detergente no iónico “Zote neutro” (2 g/L). Finalmente se enjuagó y se observaron las posibles manchas del degradado de color en los testigos.

Solidez al frote

Al igual que la técnica anterior, se pesaron 5 gramos de muestra y se colocaron entre dos telas en forma de “Sandwich”. La muestra se frotó con las manos durante 10 minutos y finalmente se separaron las telas para observar posibles manchas de degradado de color.

Solidez a la luz

Para llevar a cabo dicha prueba, se envolvió una tira larga de cartulina con fibras de lana teñida y esta se cubrió por la mitad con una cartulina de color negro. Posteriormente, se colocó debajo de un vidrio y se dejó exponer a la luz del sol durante 30 días. Finalmente se observó la posible degradación de color.

RESULTADOS

ESTANDARIZACIÓN DE LA EXTRACCIÓN DE PIGMENTOS

Se realizaron pruebas con diferentes solventes (etanol, hexano y agua) siendo metanol el que mantiene con mayor estabilidad y sin contaminación los pigmentos, por lo que se estableció como el solvente indicado para continuar con la extracción.

RENDIMIENTO

En el cuadro 1, se muestra el rendimiento que se obtuvo por cada fruto en el que el Cardón presenta un mayor rendimiento (17.77%), el menor rendimiento se obtuvo del fruto del Xoconostle.

Cuadro 1. Rendimiento por fruto (mg/g)

	Peso fruto fresco (g)	Peso del extracto mg	Rendimiento (%)
<i>P. weberi</i>	27.46	4.88	17.77
Cardón			
<i>O. decumbens</i>	9.57	0.55	5.75
Serpiente			
<i>S. stellatus</i>	46.26	1.6	3.46
Xoconostle			
<i>M. geometrizzans</i>	17.5	1.6	9.71
Garambullo			



Fig 13. Extracto de los pigmentos obtenidos de los 4 diferentes frutos xoconostle (superior izquierda), serpiente (superior derecha), garambullo (inferior izquierda) y cardón (inferior derecha)

ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Contenido de pigmentos betalainas por método de espectrofotometría

Se realizó un barrido para observar la absorbancia de los compuestos (Figura 14 y 15) en un intervalo de 400 a 600 nm y este arrojó los siguientes resultados (Cuadro 2 y 3)



Fig 14. Extractos de los pigmentos diluidos con metanol para realizar las lecturas en el espectrofotómetro.

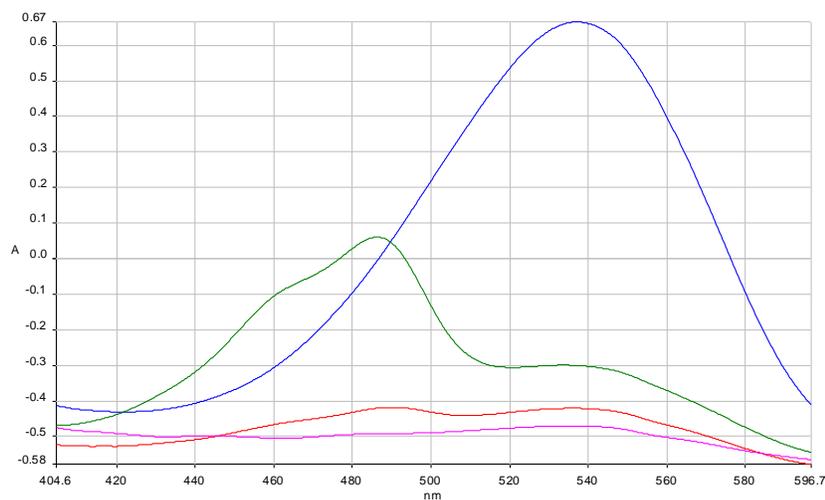


Fig.15. Barrido de absorbancia de los 4 extractos (azul) nopal serpiente, (Rojo) cardón, (Verde) xoconostle (Rosa) garambullo

El barrido sirvió para corroborar la presencia de betalaínas y las longitudes de onda a las que absorben, posteriormente se realizaron las lecturas para conocer las concentraciones de estas en los extractos, las lecturas se hicieron por espectrofotometría, en donde se observaron los siguientes resultados según las longitudes de onda correspondientes a las betaxantinas (483nm), responsable de las coloraciones amarillas y betacianinas (538nm) que dan coloraciones rojizas.

Cuadro 2. Picos de absorbanza de los extractos

FRUTO	nm BX	nm BC
Serpiente		537
Cardón	490	536
Xoconostle	486	533
Garambullo	482	536

Cuadro 3. Absorbancia de los extractos a 483 y 538 nm y contenido de betaxantinas y betacianinas (mg/g).

	Betaxantinas		Betacianinas	
	Abs 483 nm	[mg/g]	Abs 538 nm	[mg/g]
Serpiente	0.551	0.212	0.471	0.518
Cardón	0.184	0.070	0.186	0.102
Xoconostle	0.655	0.253	0.302	0.166
Garambullo	0.116	0.044	0.136	0.074

El mayor contenido de pigmentos es el del Nopal Serpiente con 0.212 y 0.518 mg/g de betaxantinas y betacianinas respectivamente, el extracto del Xoconostle también presenta una concentración importante de betaxantinas 0.253 mg/g y 0.166 mg/g de betacianinas, el cardón refleja un mayor contenido de betacianinas 0.102 mg/g, por último, el garambullo tiene el menor contenido de ambos compuestos.

Cromatografía en capa fina CCP y placa preparativa

Los pigmentos extraídos fueron analizados por cromatografía en capa fina en donde se lograron separar las betacianinas de las betaxantinas. Únicamente en la muestra del xoconostle se observa presencia de betaxantinas. Una vez que se logran separar los compuestos, se calcula el Factor de retención (Rf) de los tres extractos en donde se obtienen los resultados que se muestran en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Factor de retención de los diferentes extractos

	Garambullo	Xoconostle	Nopal Serpiente
Rf BX		0.60	
Rf BC	0.66	0.65	0.65

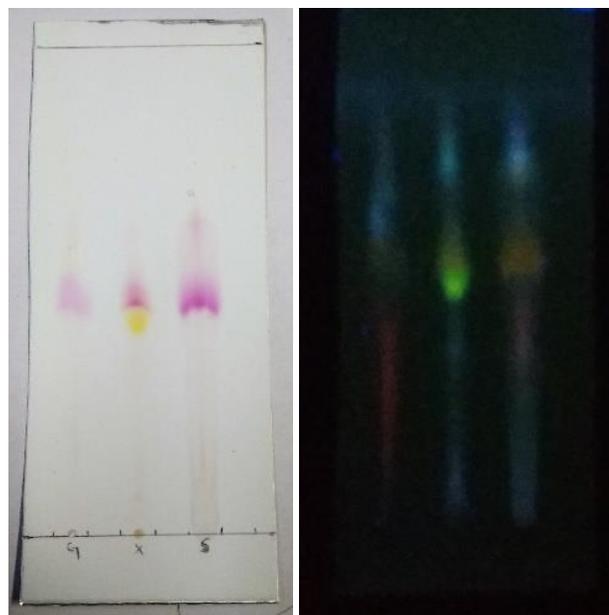


Fig. 16 Cromatografía en capa fina (CCP). Fase móvil: Isopropanol: etanol:agua: ácido acético(6:7:6:1). Visualización de la placa con luz normal y ultravioleta a 254 nm (garambullo, xoconostle y nopal serpiente)

El Rf de las betacianinas de los tres extractos es prácticamente el mismo, con lo que se podría suponer que algunos compuestos pueden ser los mismos y lo que varía es la concentración de éstos.

Una vez que se encontró la fase móvil adecuada y se percibe la separación de los pigmentos se procedió a realizar una cromatografía preparativa con el extracto de xoconostle (Fig. 17), ya que es en el que a simple vista se distinguen los dos tipos de pigmentos, con esto se logró aislar y mantener estables las dos fracciones, confirmando la presencia de betaxantinas por la fluorescencia bajo luz UV (254 nm)

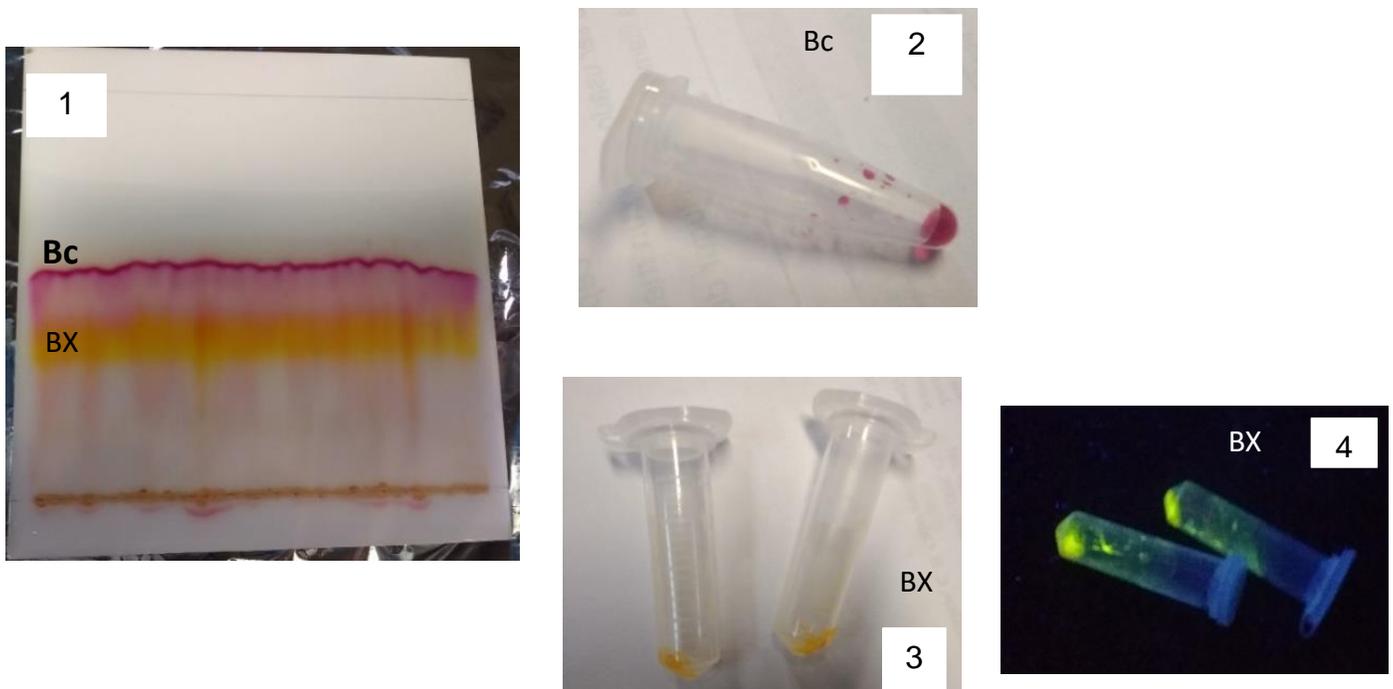


Fig 17 Cromatografía preparativa del extracto del xocnostle (1) en donde se logran aislar los compuestos betacianinas (2) y betaxantinas (3 y 4)

Identificación de compuestos por HPLC

Al estandarizar el método para una correcta identificación de las betalainas, se obtuvieron los siguientes resultados

En extracto del fruto de nopal serpiente se identificó Iso-betanina por método de HLPC-DAD, mientras que el extracto analizado por HPLC-MS se confirma la presencia de Betanina e Isobetanina como se muestra en las figuras 18, 19 y 20

Cuadro 5. Compuestos identificados por HPLC del extracto de Nopal serpiente

Nombre	Tiempo de retención (min)		λ_{max} (nm)	(m/z) [M+H] ⁺ (Ion hijo)	mg/0.2g*
	HPLC-DAD	HPLC-MS			
1) Betanina	31.83	29.406	534	551(413,341)	0.113
3) Isobetanina	33.94	31.131	534	551 (413,341)	0.083

*Se obtiene al calcular área bajo la curva tras comparar las muestras con un estándar de betanina e isobetanina

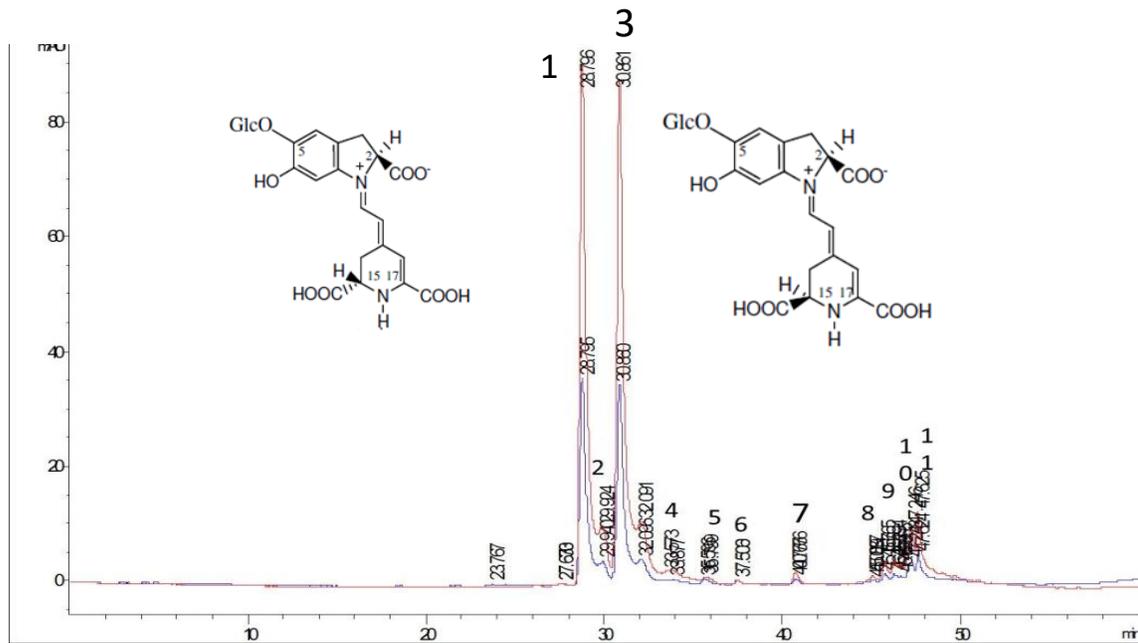


Fig. 18 Cromatograma de extracto metanólico del Nopal serpiente.

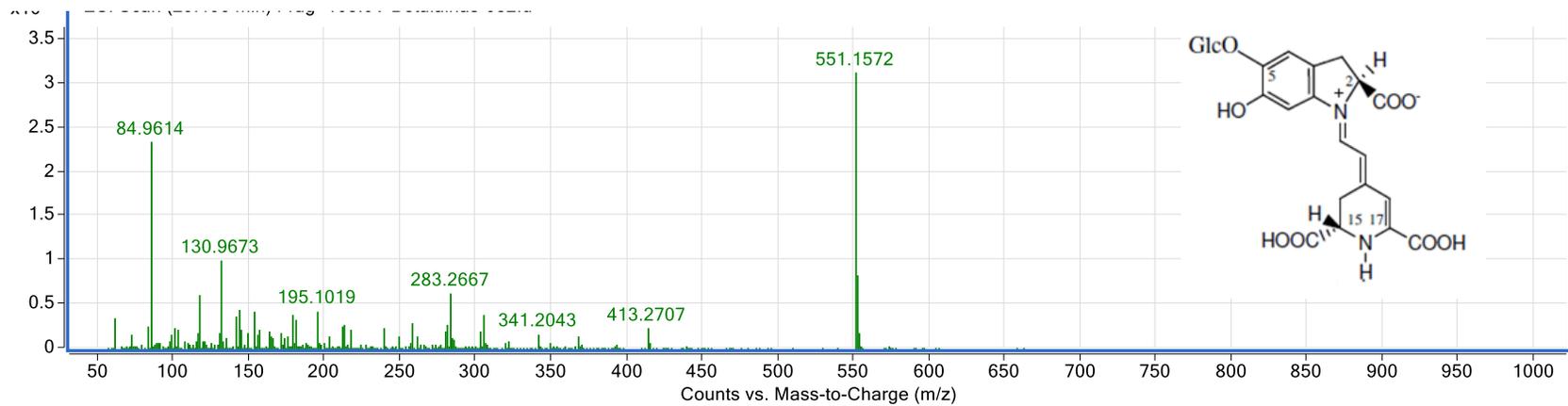


Fig 19 Perfil cromatográfico HPLC-MS de extracto del Nopal serpiente correspondiente a betanina

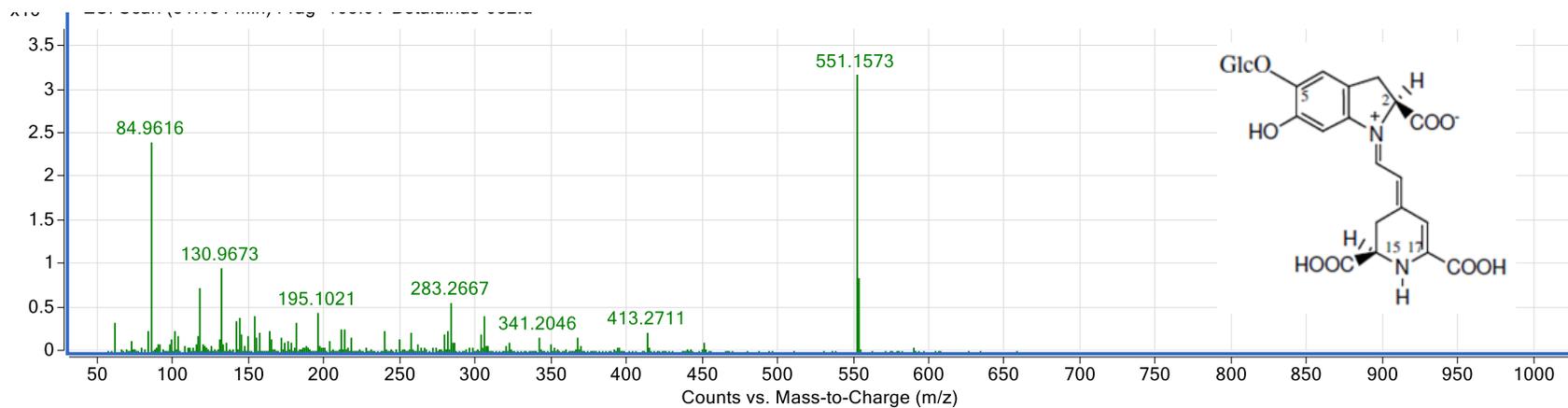


Fig 20 Perfil cromatográfico HPLC-MS de extracto del Nopal serpiente correspondiente a isobetanina

Por otro lado, los compuestos encontrados en el extracto del fruto del Xoconostle por método de HPLC-DAD y HPLC-MS son betanina, isobetanina e indicaxantina (Cuadro6).

Cuadro 6. Compuestos identifica por HPLC del extracto de Xoconostle

Nombre	Tiempo de retención		λ_{max} (nm)	(m/z) [M+H] ⁺ (Ion hijo)	mg/0.2g
	HPLC-DAD	HPLC-MS			
3) Betanina	31.84	29.61	534	551(413,341)	0.106
4) Isobetanina	33.94	31.302	534	551 (413,341)	0.082
2) Indicaxantina	25.725	-	480	-	-

*Se obtiene al calcular área bajo la curva tras comparar las muestras con un estándar de betanina e isobetanina

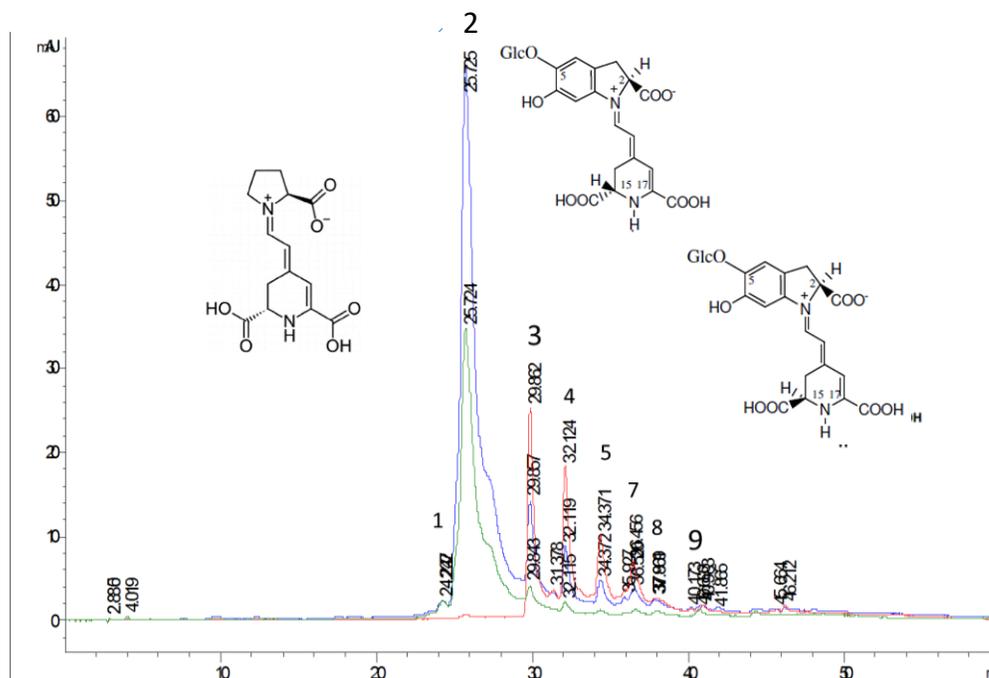


Fig. 21 Cromatograma de extracto metanólico del fruto del Xoconostle.

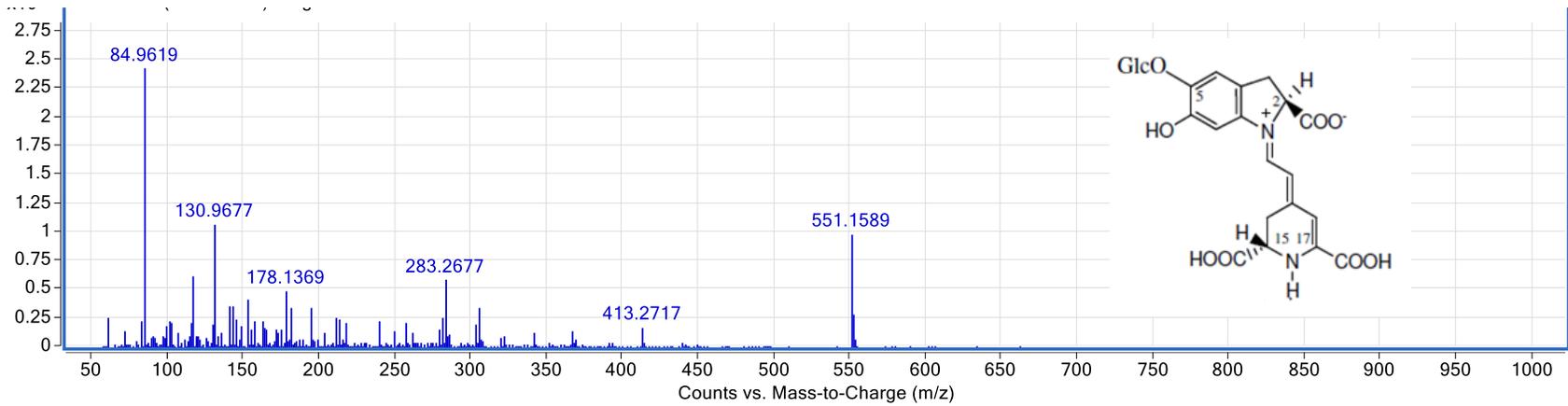


Fig 22 Perfil cromatográfico HPLC-MS de extracto del Xoconostle correspondiente a betanina

47

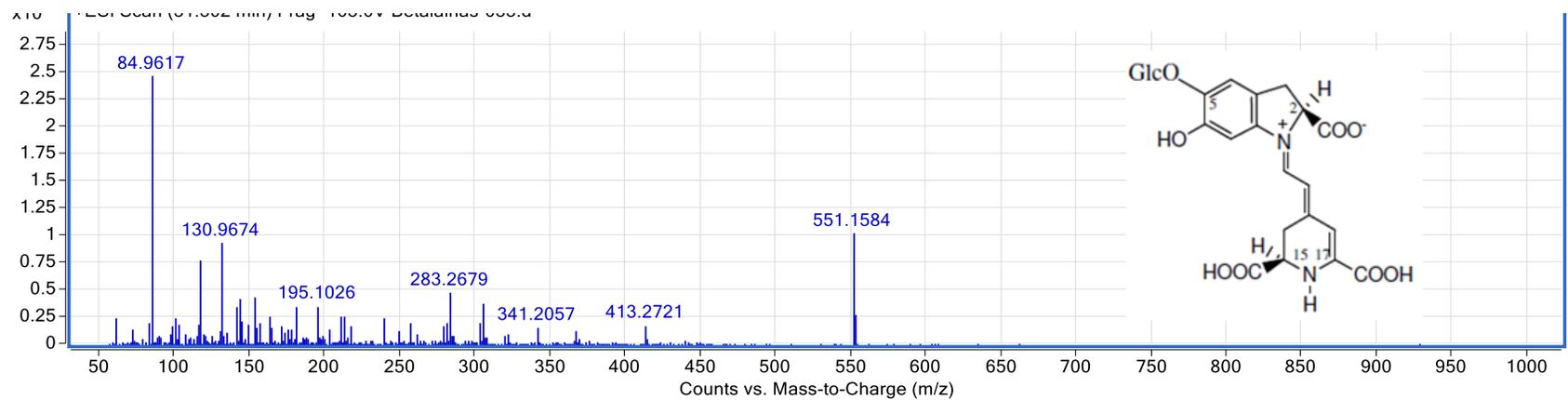


Fig 23 Perfil cromatográfico HPLC-MS de extracto del Xoconostle correspondiente a iso-betanina

En el extracto del fruto de Garambullo se identificó betanina, isobetanina e indicaxantina (HPLC-DAD y HPLC-MS) (Cuadro 7).

Cuadro 7. Compuestos identifica por HPLC del extracto de Garambullo

Nombre	Tiempo de retención		λ_{max} (nm)	(m/z) [M+H] ⁺ (Ion hijo)	mg/.2g
	HPLC-DAD	HPLC-MS			
2) Betanina	31.84	29.58	534	551(413,341)	0.188
4) Isobetanina	33.94	31.189	534	551 (413,341)	0.141
1) Indicaxantina	26.764	-	480	-	-

*Se obtiene al calcular área bajo la curva tras comparar las muestras con un estándar de betanina e isobetanina

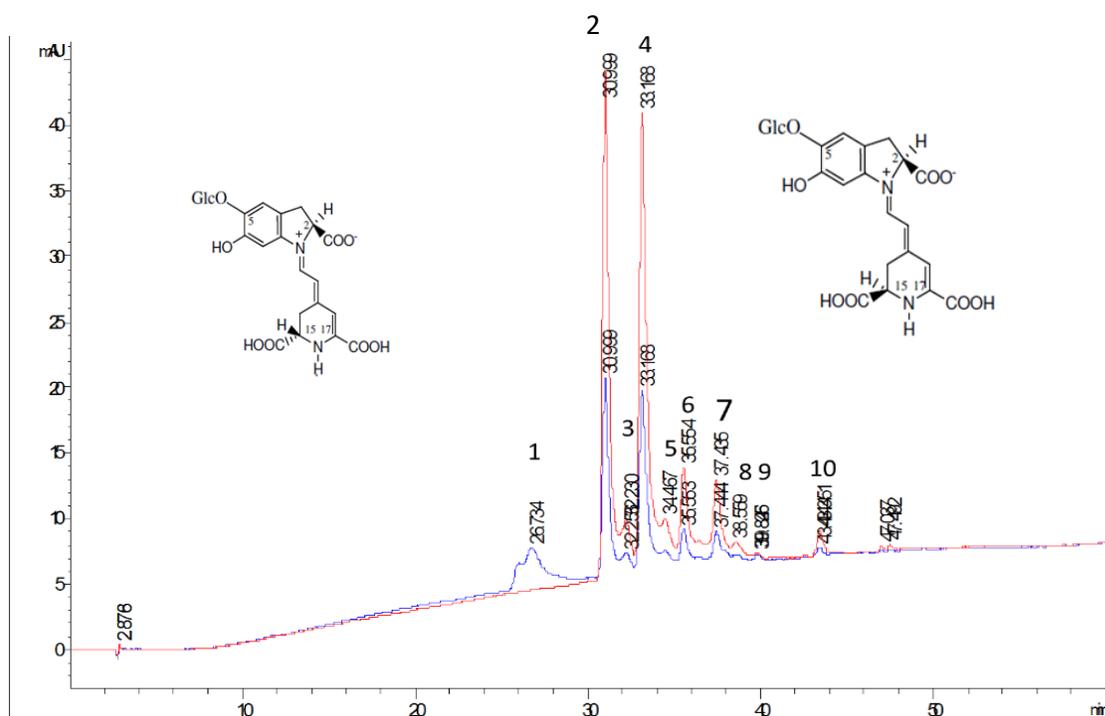


Fig. 24 Cromatograma de extracto metanólico de Garambullo.

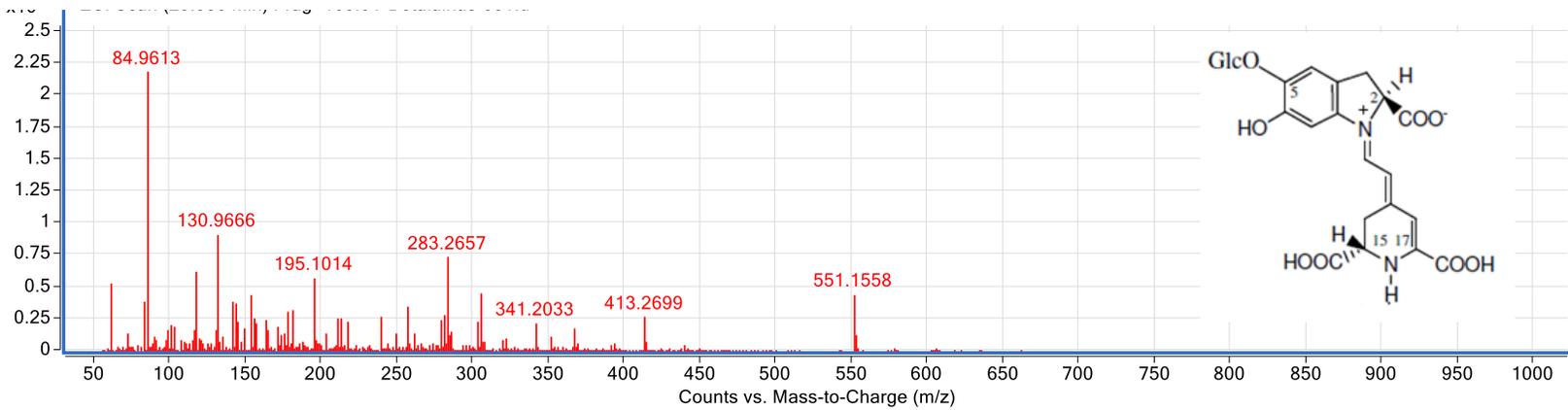


Fig 25 Perfil cromatográfico HPLC-MS de extracto del Garambullo correspondiente a betanina

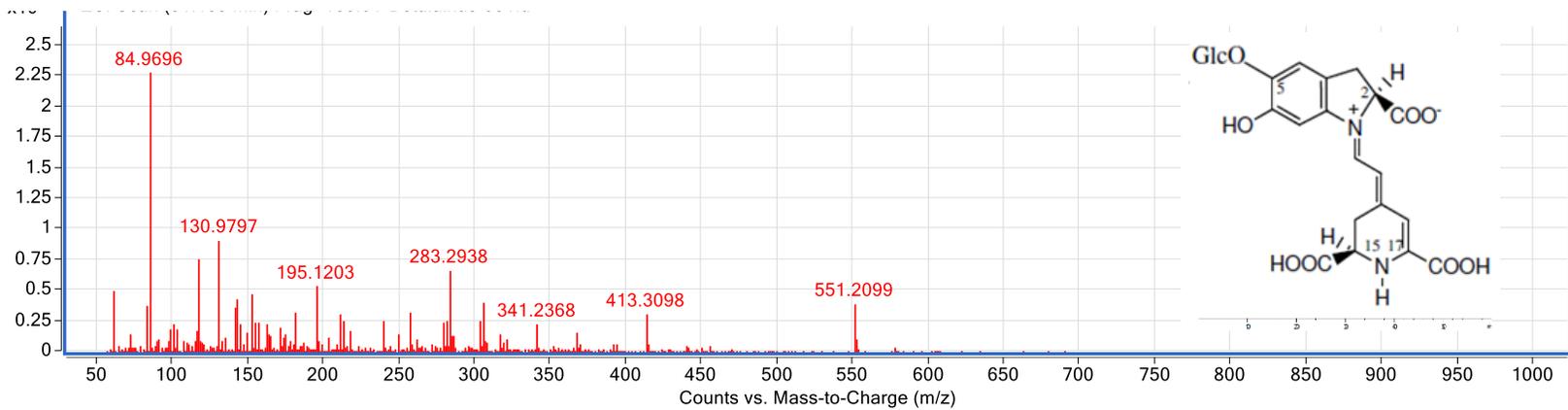


Fig 26 Perfil cromatográfico HPLC-MS de extracto del Garambullo correspondiente a iso-betanina

En el extracto del fruto del Cardón se logra identificar betanina, isobetanina e indicaxantina

Cuadro 8. Compuestos identifica por HPLC del extracto de Cardón

Nombre	Tiempo de retención		λ_{max} (nm)	(m/z) [M+H] ⁺ (Ion hijo)
	HPLC-DAD	HPLC-MS		
2) Betanina	31.84	-	534	-
4) Isobetanina	33.94	-	534	-
1) Indicaxantina	26.163	-	480	-

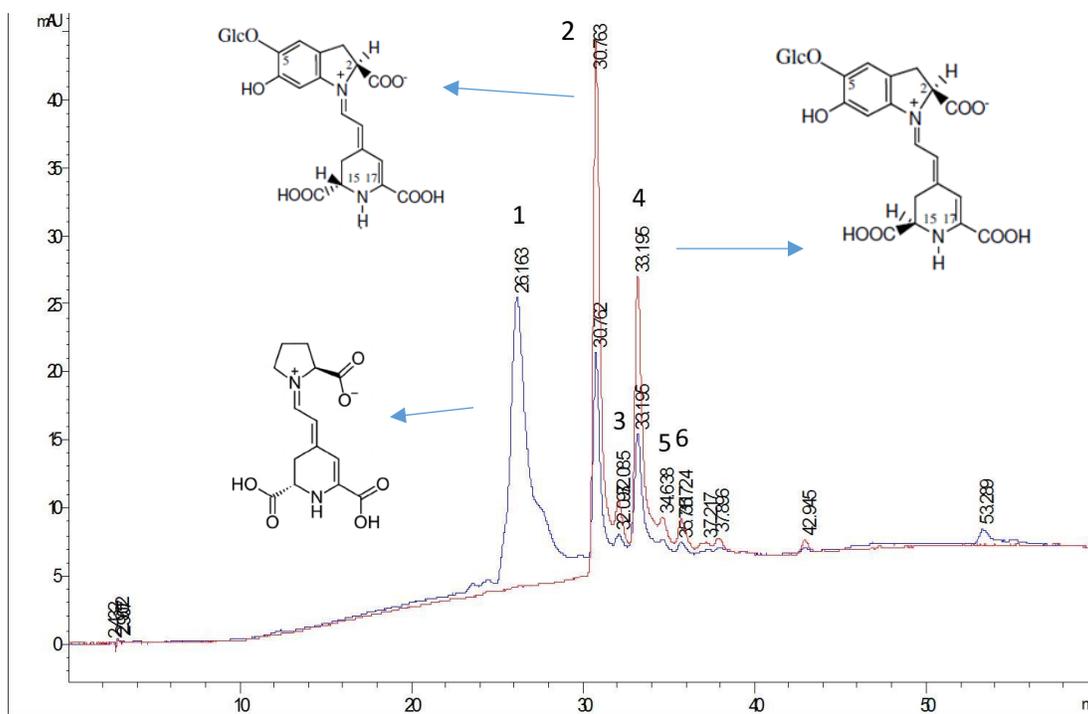


Fig. 27 Cromatograma de extracto metanólico de Cardón.

La mayor parte de los picos encontrados en las 4 muestras corresponden al grupo de las betacianinas, ya que tienen una absorbancia a 530 nm

Degradación del colorante

Caracterización del color

Se sometieron los extractos a diferentes condiciones (pH y temperatura), ya que son factores importantes en la degradación de las betalainas, de esta forma se puede observar su comportamiento por medio de espectrofotometría, calcular objetivamente el color por el método CIELab* y obtener los códigos HTML.

Caracterización del color de Xoconostle a diferente temperatura y pH

Estabilidad al cambio de temperatura

Se midió la absorbancia del extracto de Xoconostle al someterlo a diferentes temperaturas (40°, 60°, 80° y 90°) como se observa de la figura 28, es a los 60°C cuando se observa que el espectro de absorción presenta un efecto hiperocrómico e hipsocrómico, es decir un pequeño aumento en la intensidad de absorción y un desplazamiento hacia longitudes de onda más cortas (azul). Cuando los pigmentos son sometidos a 80° y 90° C se observan efectos de hipocromicidad e hipsocromicidad, una disminución en la intensidad de absorción y nuevamente desplazamiento hacia el azul.

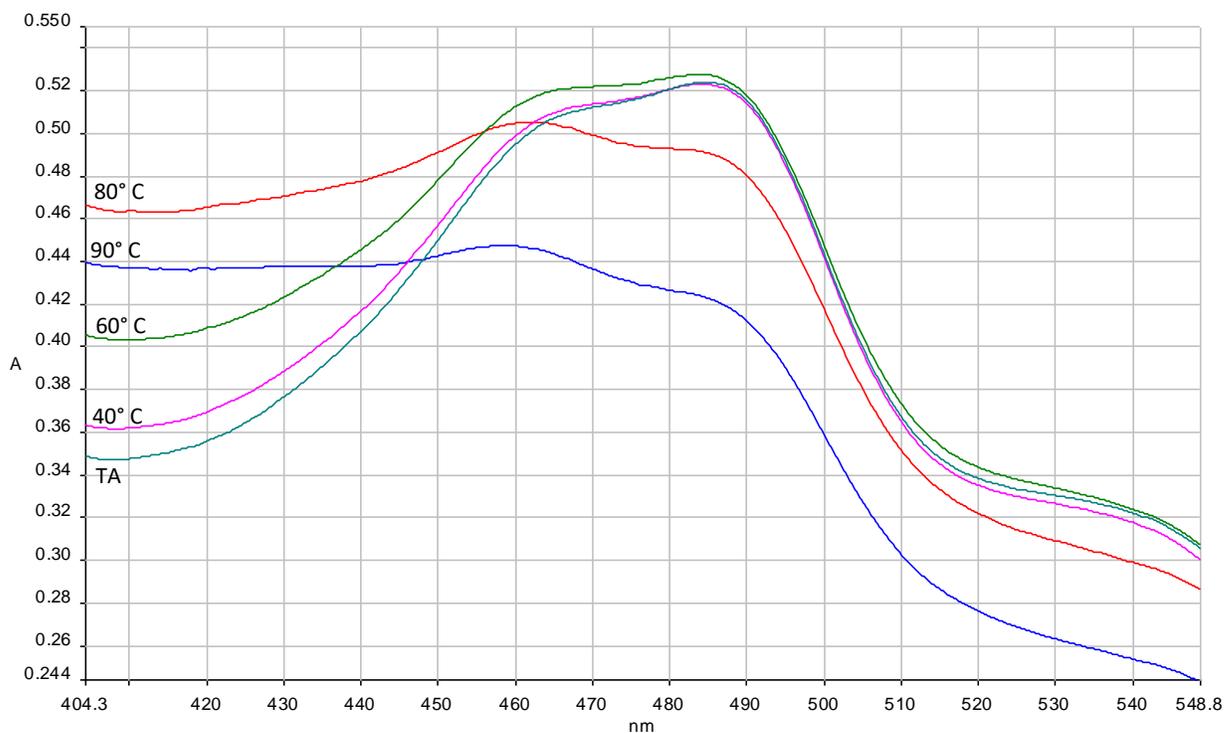


Fig. 28 Espectro de absorbancia del extracto de Xoconostle a diferente temperatura. Temperatura ambiente (TA) (azul claro), 40°C (rosa), 60°C (Verde), 80°C (rojo) y 90°C (azul oscuro).

La absorbancia del extracto cambia conforme va aumentando la temperatura, de la misma manera que ocurre visualmente con el color, por lo que se hicieron las mediciones colorimétricas durante la evolución de este, en donde se observa que el color se va haciendo gradualmente más amarillo (Cuadro 9)

Cuadro 9. Caracterización de color del Xoconostle a diferente temperatura

Cielab*	Inicial	40°C	60°C	80°C	90°C
L	70.21	71.82±0.67	72.76±0.70	71.66±0.09	66.71±0.26
A	17.76	17.50±0.32	18.16±0.31	17.83±0.04	19.92±0.16
B	15.95	16.52±0.09	15.93±0.39	16.14±0.40	17.72±0.20
HTML	#BA6550	#BA644F	#BE6951	#B76545	#C0754B
					

Estabilidad al cambio de pH

Otro de los factores que afectan considerablemente la estabilidad de las betalaínas es el pH, por lo que se hicieron lecturas por triplicado en el espectrofotómetro encontrando una tendencia a la disminución de la intensidad de absorción (efecto hipocrómico) y un desplazamiento hacia longitudes de onda más bajas, hacia el azul, (efecto hipsocrómico), haciéndose más evidente cuando los pigmentos son sometidos a pH alcalinos (pH 10), en la figura 29 en donde se muestra el promedio de las repeticiones antes mencionadas.

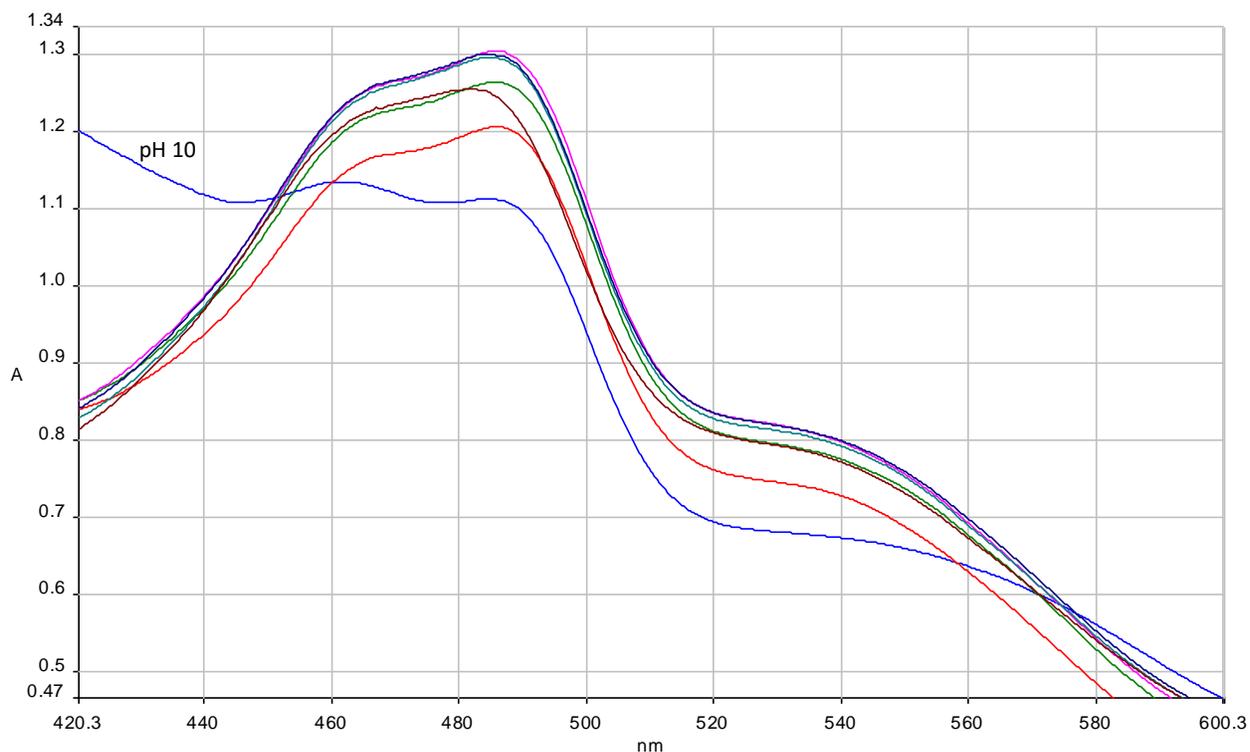


Fig. 29 Espectro de la absorbancia del extracto de Xoconostle a diferente pH. pH inicial (Azul oscuro) pH 3 (marrón), pH 4 (azul claro), pH 5 (Rosa), pH 6 (verde), pH 7 (rojo) y pH 10 (azul rey).

Cuadro 10. Caracterización del color del extracto de Xoconostle al someterlo a diferente pH

Cielab*	inicial	3	4	5	6	7	10
L	70.98	70.01±0.20	65.64±0.27	59.09±1.10	64.27±0.21	59.28±0.43	55.96±0.55
A	18.11	20.27±0.04	22.22±0.12	26.58±0.97	21.65±0.15	20.43±0.27	17.56±0.57
B	18.36	14.98±0.02	22.85±0.23	27.79±0.93	24.60±0.16	36.96±0.50	38.16±0.87
HTML	#D9A18D	#D89D91	#D29078	#C77B5F	#CD8C71	#C1804E	#B17A56



De acuerdo con la espectrofotometría y en las mediciones colorimétricas, los pigmentos en el extracto de Xoconostle parecen estables en un pH de 3 a 6, una vez llegando a pH 7 se observa una disminución de la absorbancia que se confirma con la colorimetría, y se hace más evidente a un pH 10 con una degradación mayor de los pigmentos tornándose a tonalidades marrón.

Caracterización del color del extracto del Nopal serpiente a diferente temperatura y pH

Estabilidad al cambio de temperatura

Por otro lado, la estabilidad de los pigmentos en el nopal serpiente también se ve afectado por la temperatura, observándose un efecto hipocrómico (Fig. 30), al llegar a los 80°C se empieza a observar otro pico de absorción a 420 nm, esto concuerda con la colorimetría (Cuadro 11,) en donde a partir de los 80°C los pigmentos se vuelven ligeramente amarillos hasta llegar a los 90° en donde el extracto se ha vuelto totalmente marrón.

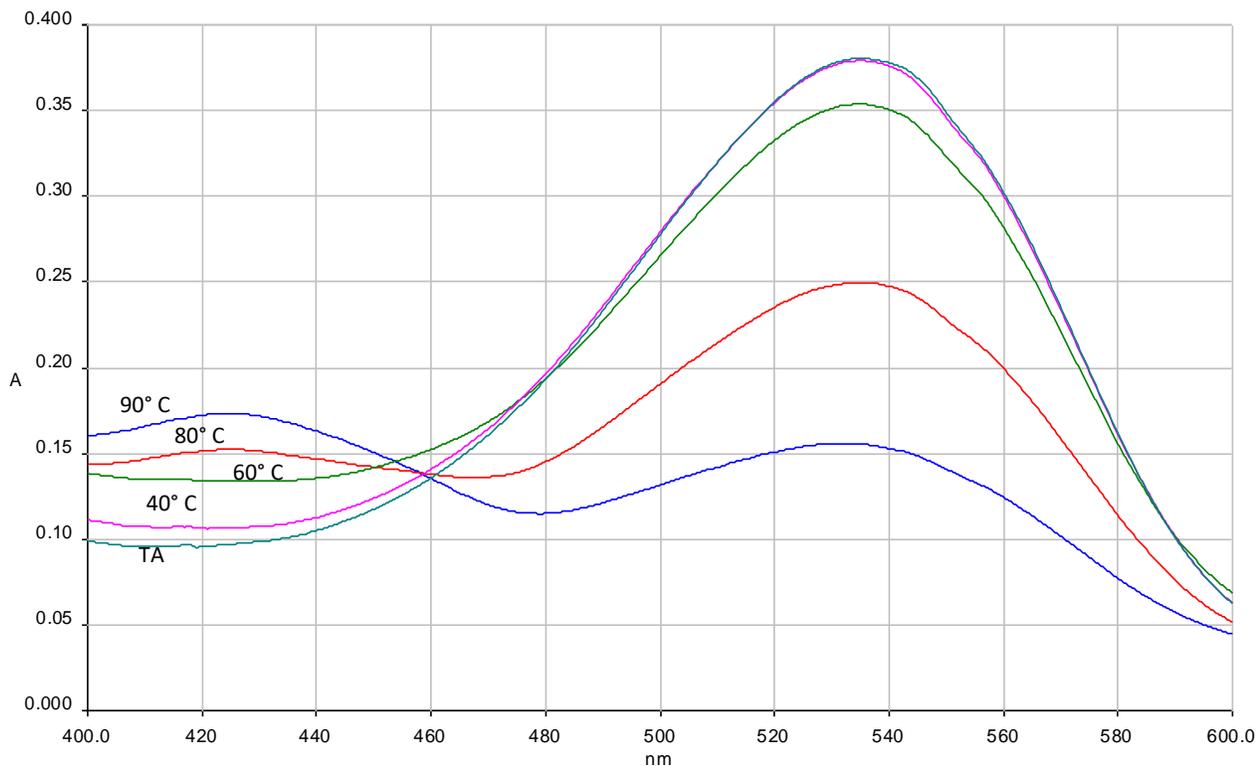


Fig 30. Espectro de absorbancia del extracto del fruto del Nopal serpiente a diferentes temperaturas. Temperatura ambiente (azul claro), 40°C (rosa), 60° (verde), 80° (rojo) y 90° (azul oscuro)

Cuadro 11. Evolución de los pigmentos del extracto del fruto de Nopal serpiente al someterlo a diferentes temperaturas

Cielab*	Inicial	40°C	60°C	80°C	90°C
L	46.05	41.52±0.70	43.00±0.71	44.48±0.37	55.15±0.52
A	39.15	38.35±0.06	36.77±0.16	36.30±0.15	16.98±0.20
B	0.47	4.68±0.47	5.17±0.42	4.94±0.23	36.05±0.14
HTML	#A8516E	#9C465C	#9E4B5E	#A24F62	#B07846

Estabilidad al cambio de pH

Al someter el extracto del nopal serpiente a diferente pH se observa que, aunque tiene una tendencia a disminuir la intensidad de absorción, es hasta un pH alcalino (pH=10) que se observa un efecto batocrómico, es decir a longitudes de onda mayores o un desplazamiento al rojo, lo que se confirma con el método de colorimetría al observar un cambio drástico de color hasta un pH alcalino, como se muestra en la figura 31 y cuadro 12

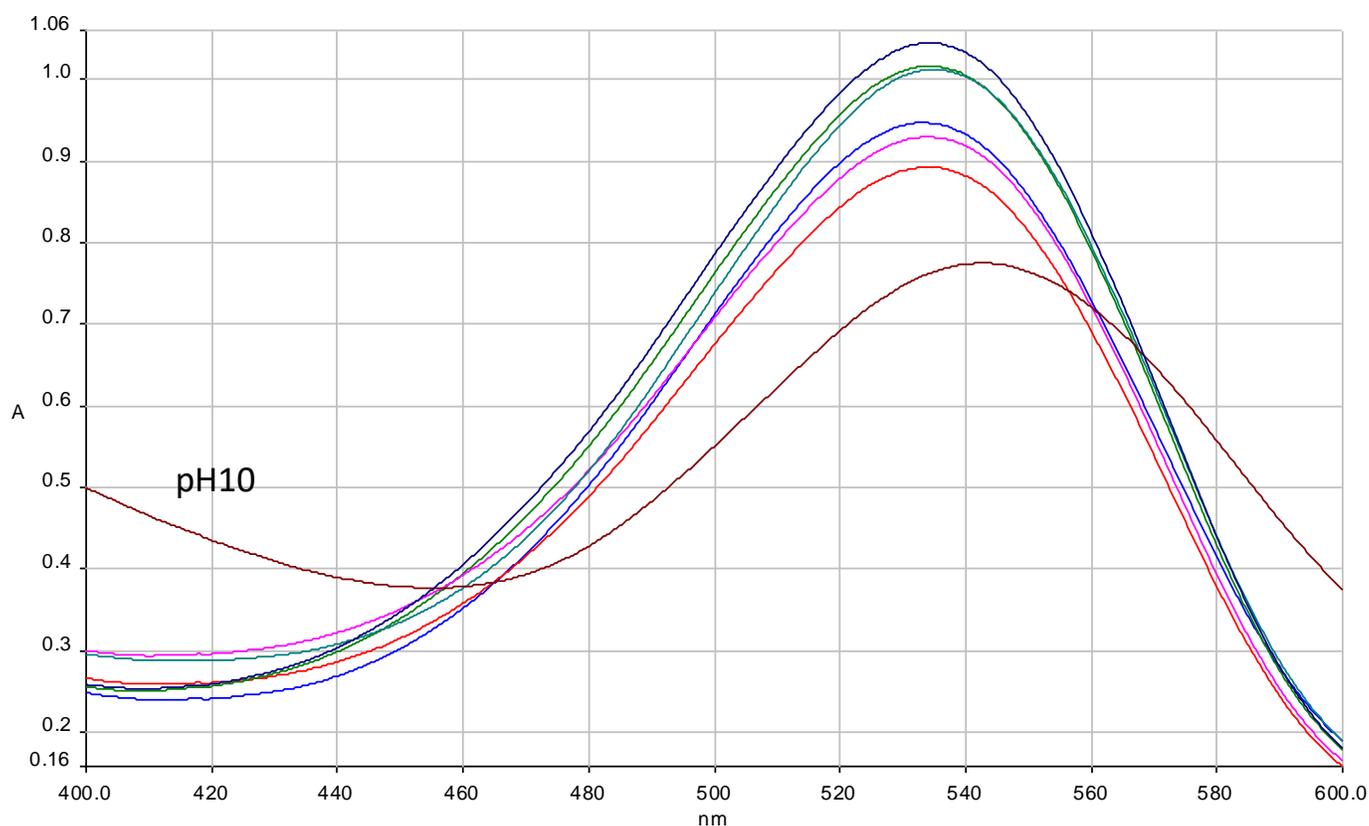


Fig 31 Espectro de absorción del extracto del fruto del Nopal serpiente a diferentes pH. pH inicial (azul oscuro), pH 3 (azul rey), pH 4 (rojo), pH 5 (verde) pH 6 (rosa) pH 7 (azul agua) y pH 10 (marrón)

Cuadro 12. Evolución de los pigmentos del extracto del fruto de Nopal serpiente al someterlo a diferentes pH

Cielab*	Inicial	3	4	5	6	7	10
L	55.02	54.86	60.79	59.94	60.73	60.41	54.59
A	35.80	35.09	30.71	30.89	30.46	29.44	12.66
B	-12.77	-9.16	-12.54	-10.15	-10.56	-10.60	20.87
HTML	#B56C9B	#B66C94	#BE7FA9	#BD7DA3	#BF7FA6	#BC7FA5	#A37A5F



Caracterización del color del extracto del garambullo a diferente temperatura y pH

Estabilidad al cambio de temperatura

El extracto de garambullo presenta dos comportamientos diferentes, al aumentar la temperatura a 40°C y 60°C se observa un ligero efecto hiperocrómico, posteriormente al aumentar más la temperatura a 80°C y 90°C, es que se observa una hipocromicidad, incluso llegando a desaparecer los picos de absorbancia. Como se observa en la figura 32.

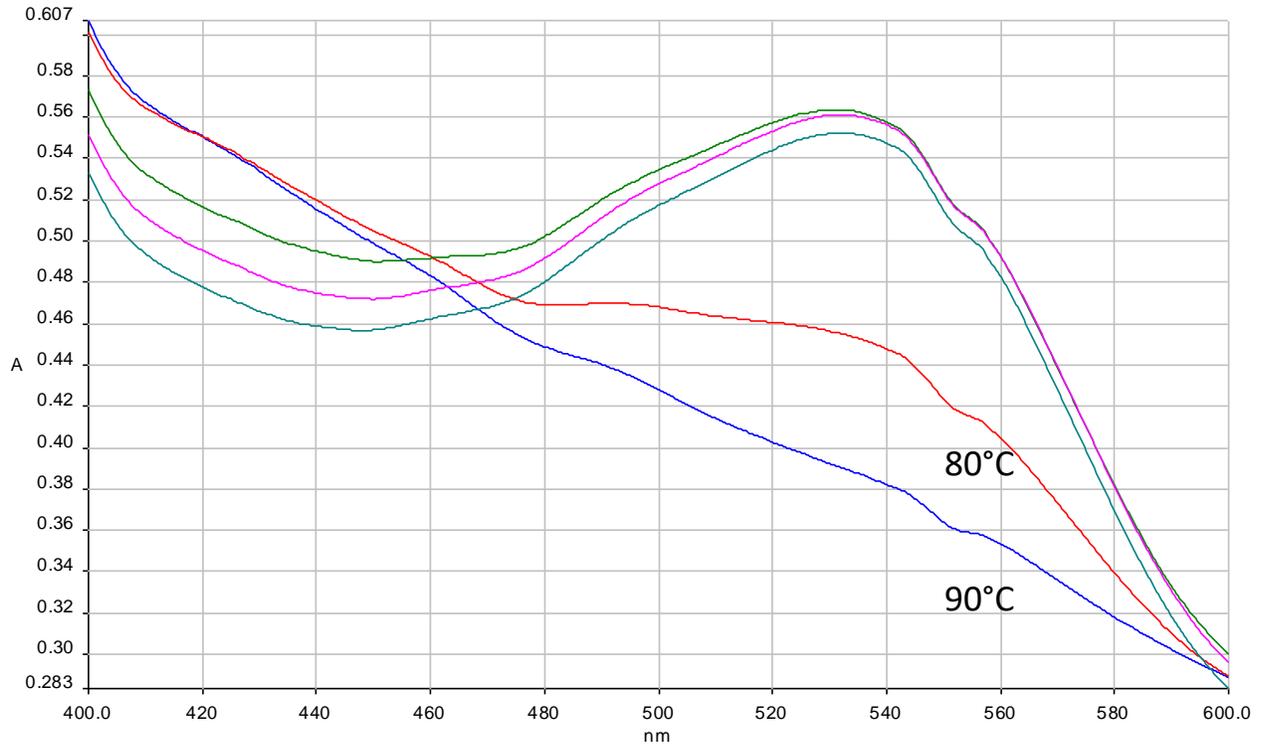


Fig 32 Espectro de absorbancia del extracto del Garambullo a diferentes temperaturas. Temperatura ambiente (azul claro), 40°C (rosa), 60°C (verde), 80°C (rojo),90°C (azul oscuro).

En cuanto a la colorimetría se percibe estable el color has la los 60 °C y una vez pasando este valor el color del pigmento cambia hacia tonos más oscuros (café) (Cuadro 13).

Cuadro 13. Evolución del color del extracto de Garambullo a diferente temperatura.

Cielab*	Inicial	40°C	60°C	80°C	90°C
L	74.99	76.81±0.07	77.79±0.18	77.88±0.37	69.82±0.37
A	17.00	16.25±0.02	15.00±0.04	12.92±0.08	14.86±0.32
B	-2.68	-3.26±0.01	-2.79±0.13	3.99±0.23	10.17±0.01
HTML	#D6AEBE	#D9B4C4	#DAB7C6	#DCB8BA	#CCA199



Estabilidad al cambio de pH

En cuanto a la estabilidad del pH se observa una tendencia a la disminución en la intensidad de absorción desde un pH de 5, posteriormente al llevarlo a pH 7 este efecto hipocrómico se vuelve más evidente y al alcalinizar la solución se observa además de hipocromicidad un efecto batocrómico al desplazar el espectro de absorción hacia el rojo.

Las pruebas colorimétricas confirman estos datos al encontrar cambios drásticos desde un pH de 7 como se observa en el cuadro 14 y figura 33

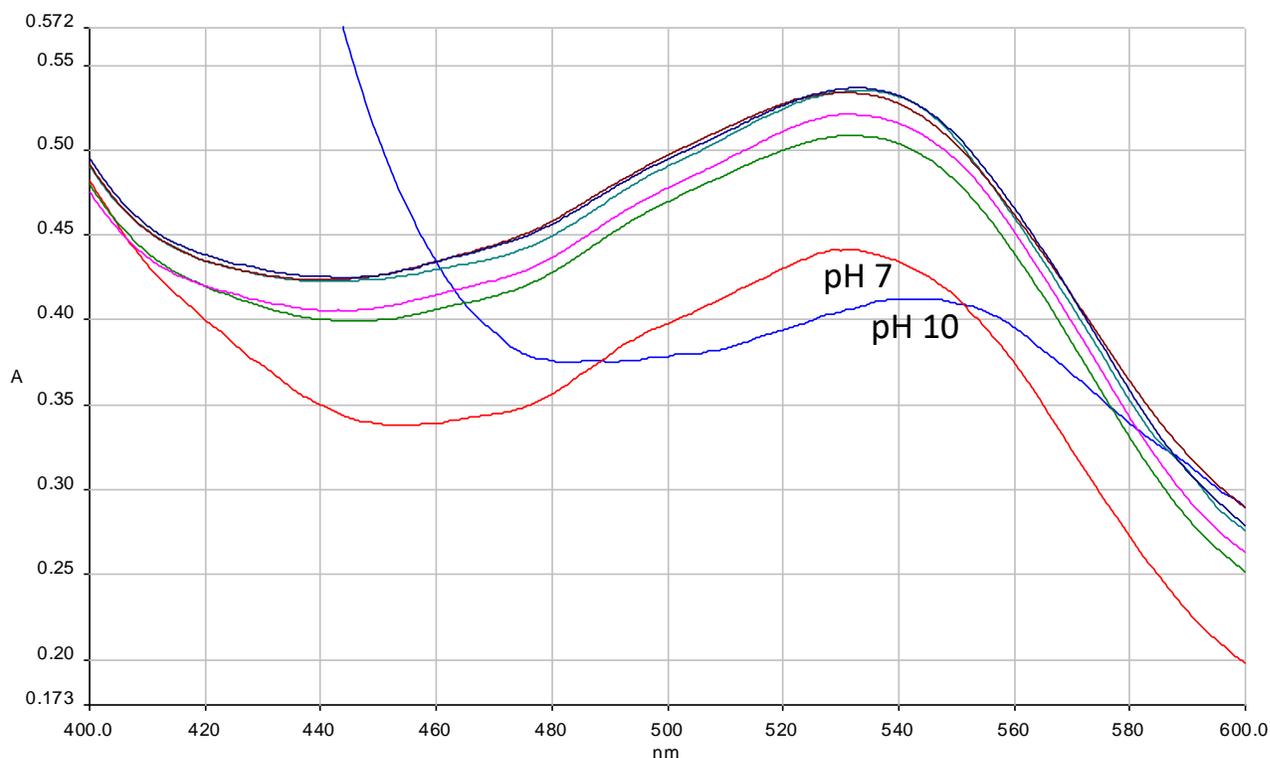


Fig 33 Espectro de absorbancia del extracto del Garambullo a diferente pH. pH normal (azul oscuro), pH 3 (marrón), pH 4 (azul agua), pH 5 (rosa), pH 6 (verde), pH 7 (rojo) y pH 10 (azul rey).

Cuadro 14. Evolución del color del extracto de Garambullo a diferente pH

Cielab*	inicial	3	4	5	6	7	10
L	70.74	69.88±0.43	70.76±0.37	67.82±0.54	66.39±0.84	63.46±0.70	54.14±0.52
a	18.40	20.30±0.15	20.43±0.13	20.96±0.30	20.75±0.44	18.24±0.49	18.86±1.42
b	-1.33	-3.90±0.18	-3.27±0.08	0.73±0.35	2.50±0.19	9.49±0.14	13.97±0.71
HTML	#CDA2B0	#CC9EB2	#CFA0B4	#CA98A5	#C7949E	#BF8E8A	#A8756A



Caracterización del color del extracto cardón a diferente temperatura y pH

Las condiciones climáticas no permitieron la colecta de material biológico de esta especie, por lo que solo fue posible realizar las pruebas colorimétricas en donde se aprecia una degradación del color drástico a un pH de 7; en cuanto a la temperatura el cambio más grande ocurre hasta los 90°C (Cuadros 15 y 16).

Cuadro 15. Evolución del color del extracto del Cardón a diferente temperatura.

Cielab*	Inicial	40°	60°	80°	90°
L	64.44	67.51±1.21	69.01±0.52	63.68±0.19	65.15±0.56
A	14.74	15.43±0.61	14.38±0.05	15.31±0.12	7.88±0.06
B	13.67	11.50±0.29	12.22±0.13	16.96±0.18	27.93±0.28
HTML	#BE9285	#C79A90	#CA9F93	#BF907D	#BC986D



Cuadro 16. Caracterización del color del Cardón a diferente pH.

Cielab*	inicial	3	4	5	6	7	10
L	70.70	71.97±0.38	70.43±0.23	71.27±0.42	67.77±0.37	64.35±0.22	59.07±0.36
A	19.16	18.47±0.25	19.28±0.14	18.32±0.30	13.40±0.33	9.25±0.13	8.68±0.23
B	9.00	6.96±0.12	9.34±0.02	10.58±0.31	22.53±0.07	30.42±0.23	38.19±2.75
HTML	#D5A09D	#D6A4A4	#D49F9C	#D6A29C	#CA9B7D	#BD9566	#B0874B



Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente temperatura

Para evaluar las diferencias colorimétricas entre los diferentes grados de temperatura y el pH se calculó la diferencia de color (ΔE^*ab). Tomando en cuenta que el cambio de color con unidades mayores a 5 (CIELAB) indica una gran diferencia de color, es decir, perceptible para el ojo humano (Fig. 34 y apéndice 2).

En cuanto al cambio de temperatura, en el Xoconostle existe una diferencia de color drástica a partir de los 80°C con un ΔE de 5.75 unidades. Para el Nopal serpiente existen cambios levemente visibles y no es hasta los 90°C que se observa un aumento de 42.9 unidades ΔE . En el caso del Garambullo los cambios perceptibles se dan hasta someter a los pigmentos a 80°C y por último el extracto del fruto del Cardón presenta un comportamiento similar a los anteriores, ya que existen cambios perceptibles de color hasta someterlo a 90°C.

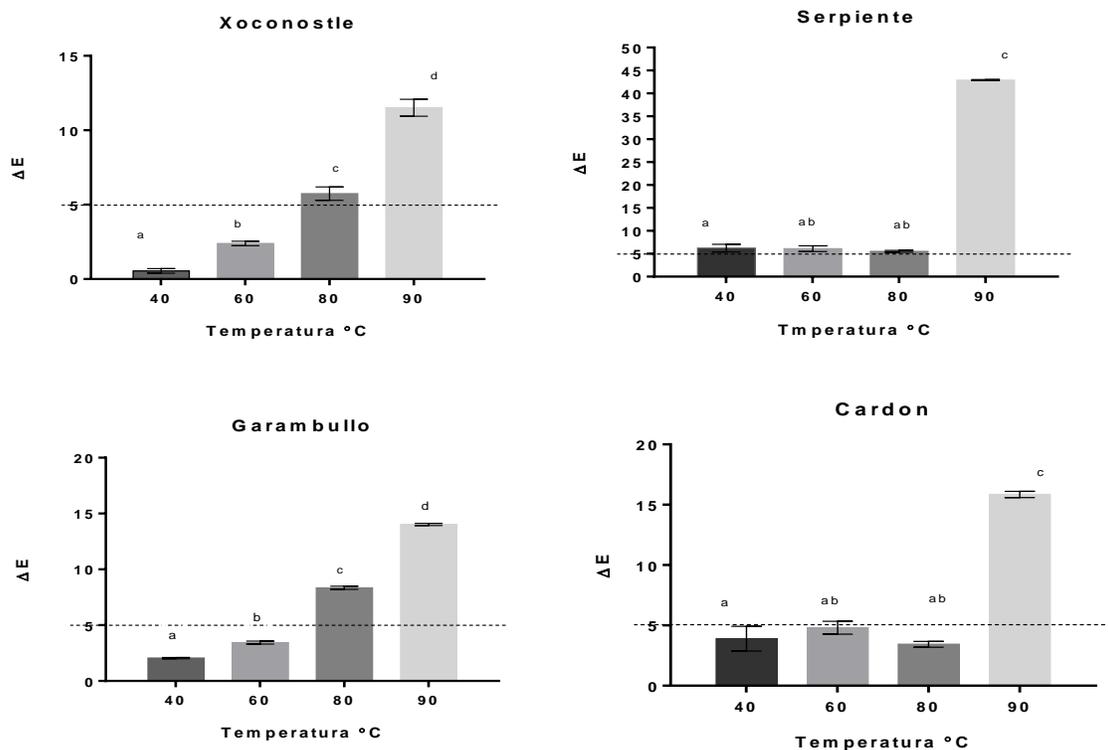


Fig 34 Estabilidad del color (ΔE) a diferente temperatura (Tukey a una $P < 0.05$)

Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente pH

Por otro lado, la caracterización del color al someter los pigmentos a diferente pH arrojó los resultados que se observan en la figura 35 en donde el Xoconostle resultó ser más sensible a los cambios de pH, ya que el color sufre alteraciones perceptibles a partir de cambiar el pH a 4. El extracto del Nopal serpiente se comporta diferente, con cambios apenas perceptibles hasta un pH de 7 y un cambio drástico al llegar a un pH básico con un ΔE de 40.84 unidades.

En el caso del extracto de Garambullo se presentan cambios perceptibles a partir de un pH de 6 hasta ser drástico a un pH básico con un ΔE de 22.62 unidades, por último los cambios importantes en el color de los pigmentos presentes en el Cardón se observan desde un pH de 6 hasta volverse básico a un pH 10.

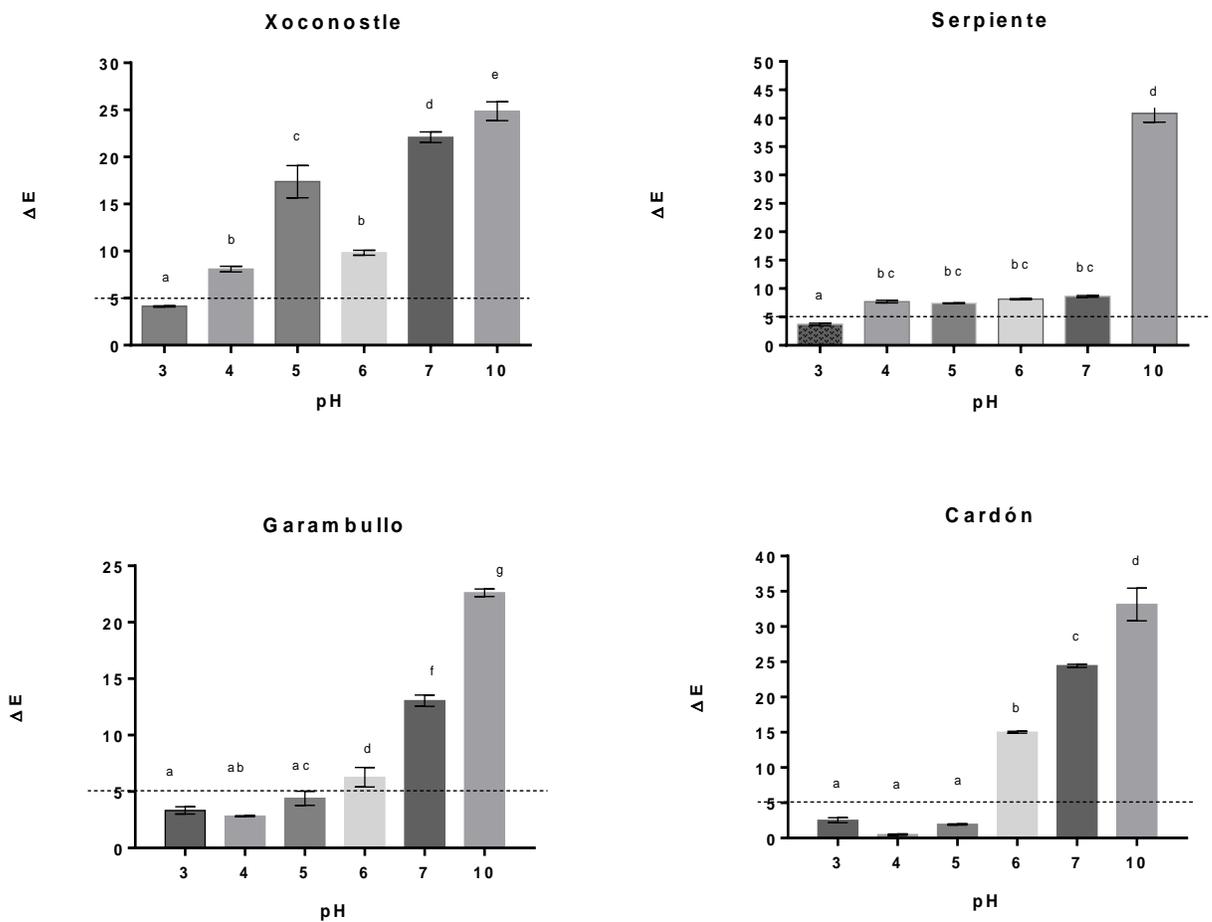


Fig 35 Estabilidad del color (ΔE) a diferente pH (prueba de Tukey a una $P < 0.05$)

Efectividad de los pigmentos sobre fibras de lana

Efectividad del mordiente sobre la coloración de la lana

Sobre los diferentes mordientes que se utilizaron (alumbre y cremo tártaro) se observó que si hay una diferencia de tonalidad entre los extractos como se puede observar en la figura 36.



Fig 36 Efectividad del mordiente sobre la coloración de la lana. Garambullo alumbre (Izquierda superior), Garambullo crémor tártaro (izquierda inferior), Nopal serpiente alumbre (en medio superior), Nopal serpiente crémor tártaro (en medio inferior), por último Xoconostle alumbre (Derecha superior) y Xoconostle crémor tártaro (derecha inferior) (. Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García Arias)

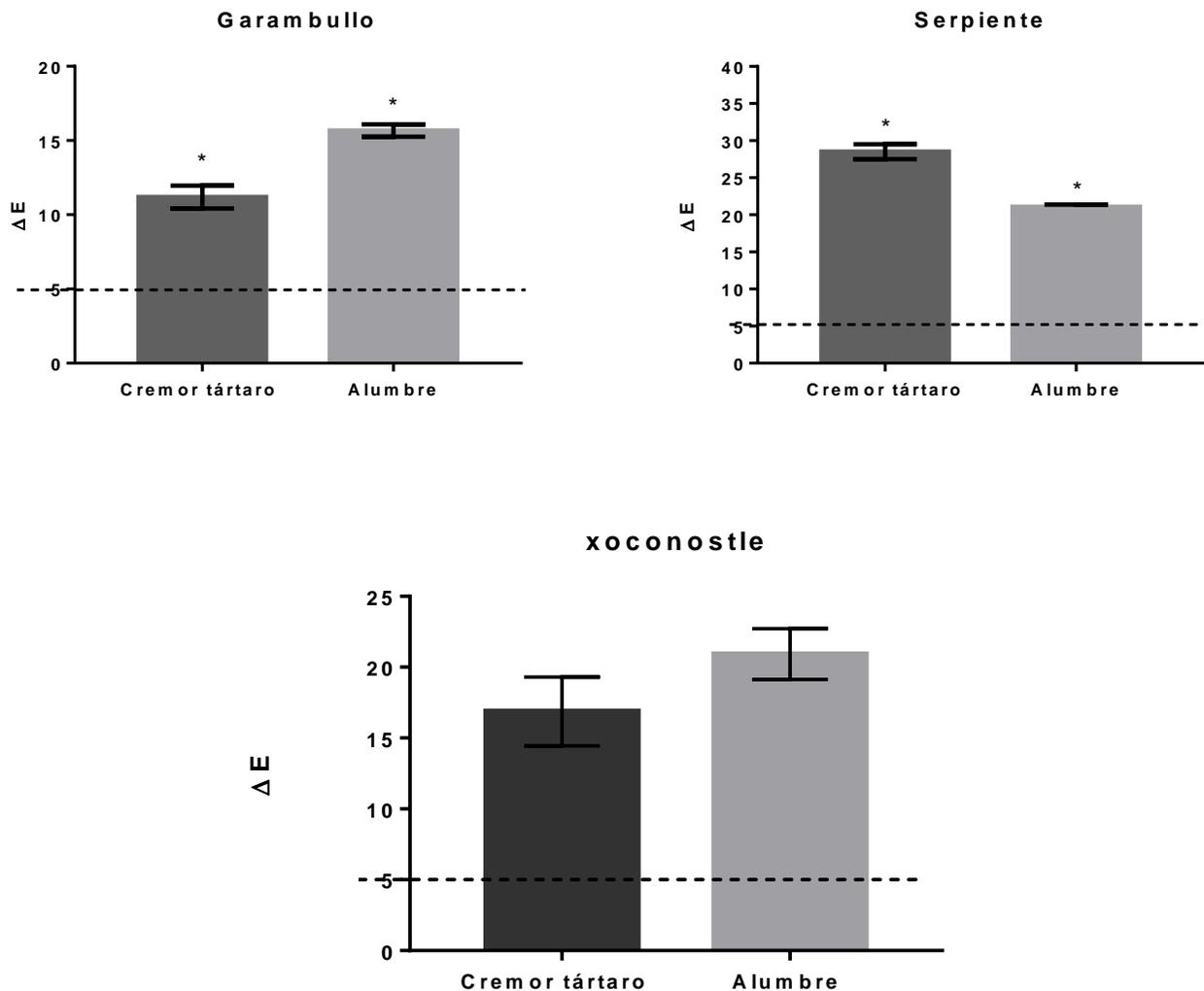


Fig 37. Estabilidad del color (ΔE) con diferentes mordientes. T test $p < 0.05$

En la figura 37 se ejemplifica el grado de cambio de color desde una fibra de lana sin teñir y cómo cambia el color con los diferentes mordientes, en el caso de aquellas fibras teñidas con garambullo, el alumbre es el que genera una mayor absorción y por lo tanto una diferencia mayor en el color, por otro lado, la lana teñida con el extracto de nopal serpiente presenta un mayor cambio cuando es mordentada con el crémor tártaro.

Efectividad del teñido.

Firmeza al lavado, solidez al frote y exposición a la luz de las fibras teñidas con el extracto de Garambullo.

Una vez que se sabe el efecto del mordiente sobre las fibras y los pigmentos se realizaron pruebas de firmeza al lavado, frote y exposición a la luz, en donde se obtuvieron los siguientes resultados



Fig 38 Firmeza al lavado de fibra teñida con extracto de Garambullo mordentada con cremor tártaro (arriba) y alumbre (abajo). Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García arias)

Al hacer la prueba de lavado con la fibra teñida con Garambullo y mordentada con cremor tártaro y alumbre no se encontraron residuos o sangrado del pigmento en la tela blanca, aunque sí se pudo observar que disminuye la intensidad del color (Fig. 38).

Fig 39 Solidez al frotado de fibra teñida con extracto de Garambullo mordentada con crémor tártaro (arriba) y alumbre (abajo) Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García Arias)



En cuanto a la prueba de frotado con los dos mordientes no se observó sangrado o restos de pigmento en las telas después de frotar por 10 minutos (Fig. 39).

Por último, en la prueba de exposición a la luz se observa que sí disminuye la intensidad del color de las fibras expuestas a ésta, a diferencia de la parte que fue cubierta totalmente (Fig 40).



Fig 40. Resistencia del pigmento a la luz del extracto de Garambullo mordentada con crémor tártaro (izquierda) y alumbre (derecha) Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García arias)

Se realizó la caracterización del color al obtener las coordenadas Cielab* (Cuadro 19) y así comparar el cambio a partir de las fibras teñidas y mordentadas con alumbre y crémor tártaro y con las fibras después de las pruebas de lavado, frotado y exposición a la luz para corroborar las diferencias como se observa en la figura 77.

En el cuadro 17 y figura 41 observamos la evolución del color del extracto de Garambullo en donde no existen diferencias significativas entre la fibra lavada frotada y expuesta a la luz mordentada con alumbre, el caso es diferente para para las tratadas con crémor tártaro en el que no hay cambios perceptibles en la prueba de frotado a diferencia de cuando son lavadas y expuestas a la luz.

Es muy importante resaltar que en ambos casos (alumbre y crémor tártaro) hay un mayor cambio en la exposición a la luz.

Cuadro 17. Caracterización del color de los pigmentos de Garambullo como tintes en fibras de lana mordentadas con alumbre y crémor tártaro

Cielab*	Alumbre				Crémor tártaro			
	Alumbre	Lavado	Frotado	Luz	Lavado	Frotado	Luz	
L	58.74	62.95±2.88	65.98±1.51	65.25±1.46	63.89	71.50±2.79	67.59±3.36	66.64±2.43
A	4.58	3.83±1.06	2.83±0.22	2.86±0.52	2.78	0.92±0.76	1.37±0.38	1.69±0.33
B	20.72	20.20±0.79	21.87±0.65	16.47±1.27	18.96	20.08±0.66	21.31±0.48	14.44±0.87
HTML	#A28969	#AC9575	#B49D79	#AF9C81	#AC9879	#BFAD8B	#B5A37E	#AFA088

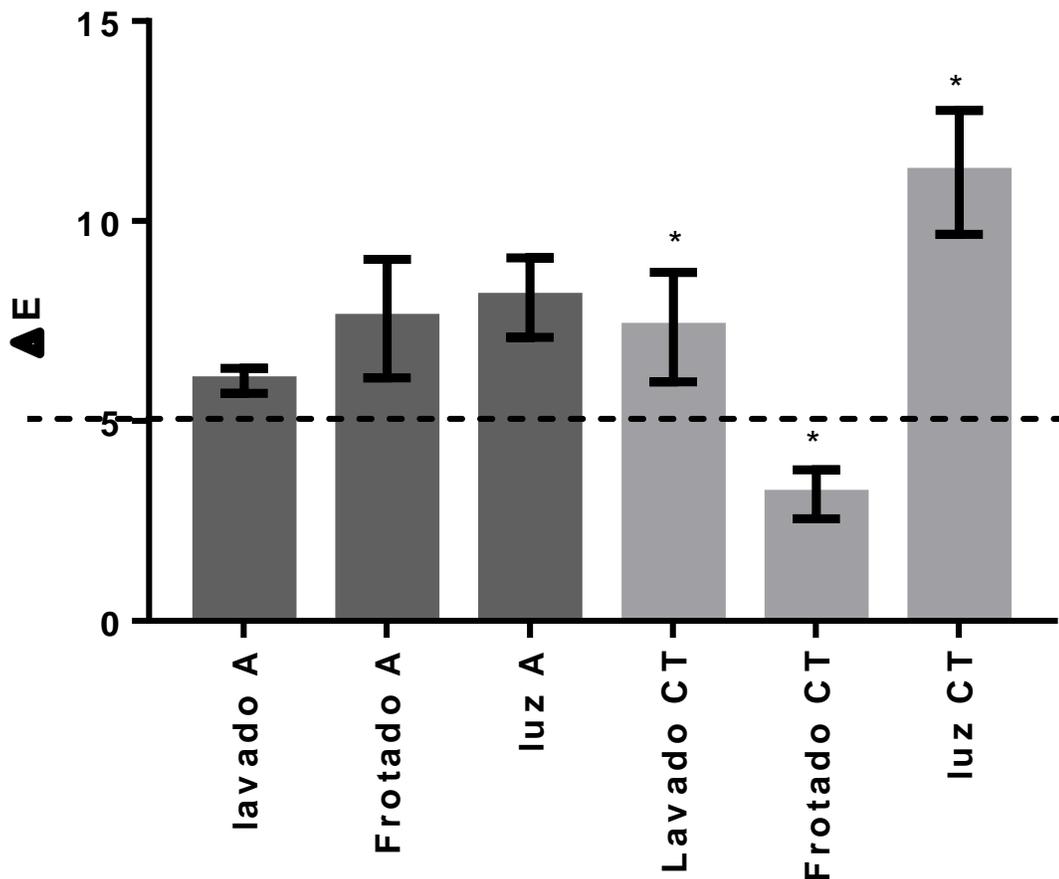


Fig 41 Cambio de color (ΔE) a partir de las fibras teñidas con el extracto de Garambullo y mordentadas con alumbre (A) y crémor tártaro (CT) y después de realizar las diferentes pruebas, lavado, frotado y exposición a la luz. ANOVA $p < 0.05$

Firmeza al lavado, solidez al frote y exposición a la luz de las fibras teñidas con el extracto de Nopal serpiente.

Nuevamente se realizaron las pruebas de firmeza del color para el extracto del Nopal serpiente, con lo que se encuentra que persiste el color después de hacer los lavados, aunque se observa una disminución en la intensidad de este con los dos mordientes utilizados (Fig. 42).



Fig 42 Firmeza al lavado de fibra teñida con extracto del Nopal Serpiente mordentada con crémor tártaro (arriba) y alumbre (abajo) Imagen original (Biol. Fernanda Hatziri García arias)

Fig 43 Solidez al frotado de fibra teñida con extracto del Nopal serpiente mordentada con crémor tártaro (arriba) y alumbre (abajo) Imagen original (Biol. Fernanda Hatziri García arias)



Por otro lado, en la prueba de solidez el frote se observó sangrado en la tela blanca después de frotar durante 10 minutos en ambos casos y de la misma manera ocurre con el lavado, se observa una disminución en la intensidad del color en las fibras (Fig. 43).

Al exponer la lana a la luz resulta evidente la disminución en la intensidad del teñido de la zona expuesta, mientras que la otra mitad permaneces con la misma intensidad (Fig. 44).

Zona expuesta



Fig 44 Resistencia del pigmento a la luz del extracto del nopal serpiente mordentada con crémor tártaro (izquierda) y alumbre (derecha). Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García arias)

Del mismo modo se realiza la caracterización del color para comparar las fibras una vez teñidas con los dos mordientes y después de que se realizaron las pruebas de firmeza, solidez del color y exposición a la luz.

En el cuadro 18 y figura 45, se observa la evolución del color después de realizar las pruebas, para corroborar estos datos se calculó la diferencia de color tomando como dato inicial a las fibras teñidas con el extracto del Nopal serpiente y mordentada con las dos sales, de esta forma se observa que sí hay cambios perceptibles en todas las pruebas con el uso de los mordientes, aunque los cambios

más drásticos son los que se presentan en las fibras mordentadas con crémor tártaro.

Los resultados muestran que no existen diferencias significativas en el cambio de color entre las pruebas de lavado frotado y exposición a la luz entre las pruebas y los dos mordientes utilizados.

Cuadro 18. Caracterización del color de los pigmentos del Nopal serpiente como tinte en fibras de lana mordentadas con alumbre y crémor tártaro

Cielab*	Alumbre				Cremor tártaro			
	Alumbre	Lavado	Frotado	Luz	Lavado	Frotado	Luz	
L	56.48	64.87±1.16	64.25±3.44	61.03±1.38	47.36	58.02±2.22	58.03±3.75	55.98±2.46
A	7.30	4.50±0.39	6.12±0.34	5.35±1.32	13.21	12.31±1.96	14.46±1.00	10.58±0.14
B	24.95	28.55±2.13	26.78±2.15	18.64±1.13	23.17	24.90±1.30	25.95±1.12	20.52±1.07
HTML	#A2825C	#B7996B	#B7976C	#A98F73	#91674A	#AE8361	#B2815F	#A47F63
								

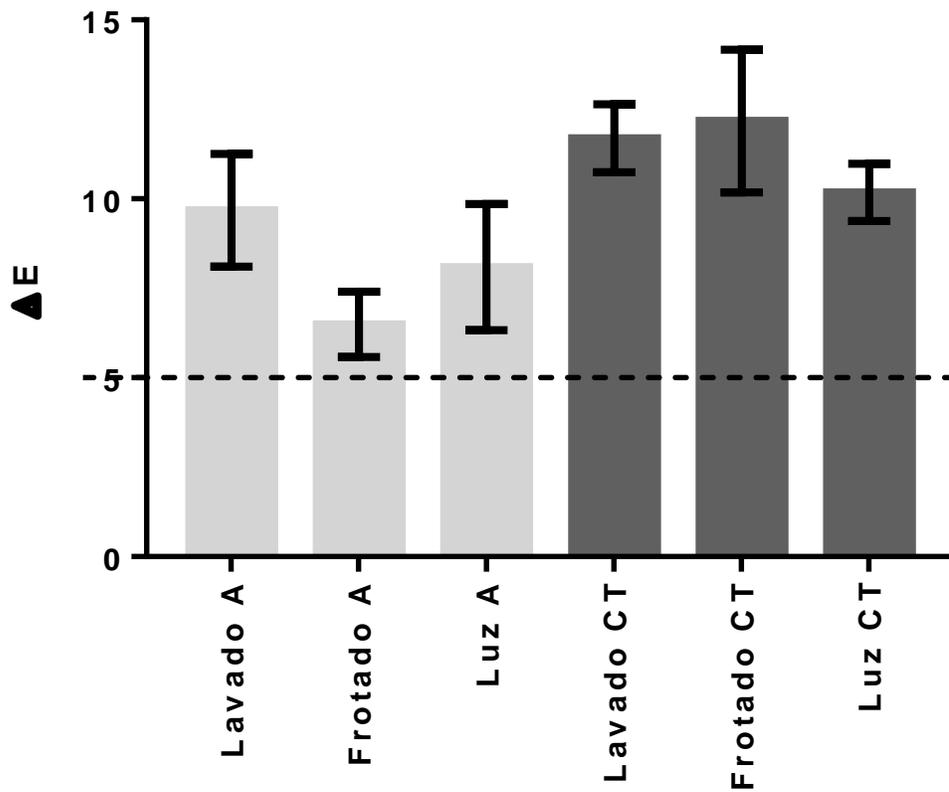


Fig 45 Cambio de color (ΔE) a partir de las fibras teñidas con extracto de Nopal serpiente mordentadas con alumbre (A) y crémor tártaro (CT) y después de realizar las diferentes pruebas, lavado, frotado y exposición a la luz. ANOVA $p < 0.05$.

Firmeza al lavado, solidez al frote y exposición a la luz de las fibras teñidas con el extracto de Xoconostle.

Por último, se realizaron las pruebas de firmeza del color con el extracto del Xoconostle en donde se observa que persiste el color después de realizar los lavados de las fibras aunque es evidente una disminución en la intensidad en la pigmentación (Fig.46).



Figura 46. Firmeza al lavado de fibra teñida con extracto del Xoconostle mordentada con crémor tártaro (arriba) y alumbre (abajo) Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García arias)

El mismo fenómeno se observa al someter las fibras a la prueba de frote en donde la intensidad de los pigmentos en la fibra decrece y se observa un poco de sangrado en tela (Fig. 47)..

En cuanto a la prueba de exposición a la luz se observa cómo se pierde el color de en gran medida en la zona expuesta en los dos mordientes utilizados (Fig. 48).



Fig 47 Solidez al frotado de fibra teñida con extracto del Xoconostle mordentada con crémor tártaro (arriba) y alumbre (abajo) Imagen original (Biol. Fernanda Hatziri García arias)

Zona de exposición



Fig 48 Resistencia del pigmento a la luz del extracto del Xoconostle mordentada con crémor tártaro (izquierda) y alumbre (derecha) Imagen original (Biól. Fernanda Hatziri García Arias)

Para corroborar los cambios ocurridos se realizaron las mediciones colorimétricas y así hacer las comparaciones de las fibras teñidas con los dos mordientes y después de realizar las pruebas (Cuadro 19).

Cuadro 19. Caracterización del color de los pigmentos del Xoconostle como tinte en fibras de lana mordentadas con alumbre y crémor tártaro

Cielab*	Alumbre	Lavado	Frotado	Luz	Cremer tártaro	Lavado	Frotado	Luz
L	64.93	75.68 ±0.48	71.65±0.50	67.95±1.34	61.36	76.47±0.36	71.65±0.50	75.38±0.81
A	-0.17	-1.89±1.09	1.26±0.28	0.27±0.37	2.44	4.66±0.58	0.94±0.50	1.56±0.26
B	29.82	30.70±0.63	31.70±1.93	20.46±0.68	32.44	38.01±0.09	30.36±0.66	25.35±1.65
HTML	#B09C68	#CBBA82	#C6AD76	#B4A481	#AB915B	#DCB876	#C5AD78	#CEB78B



Con estos datos se calculó (ΔE) en donde se observan menores cambios en las fibras mordentadas con alumbre que aquellas que fueron mordentadas con crémor

tártaro. En la figura 85 se observa que hay cambios perceptibles con unidades mayores a 5 con los dos tipos de mordientes

Estadísticamente estos cambios presentan diferencias significativas entre las pruebas de lavado frotado y exposición a la luz de los dos mordientes como se observa en la figura 49.

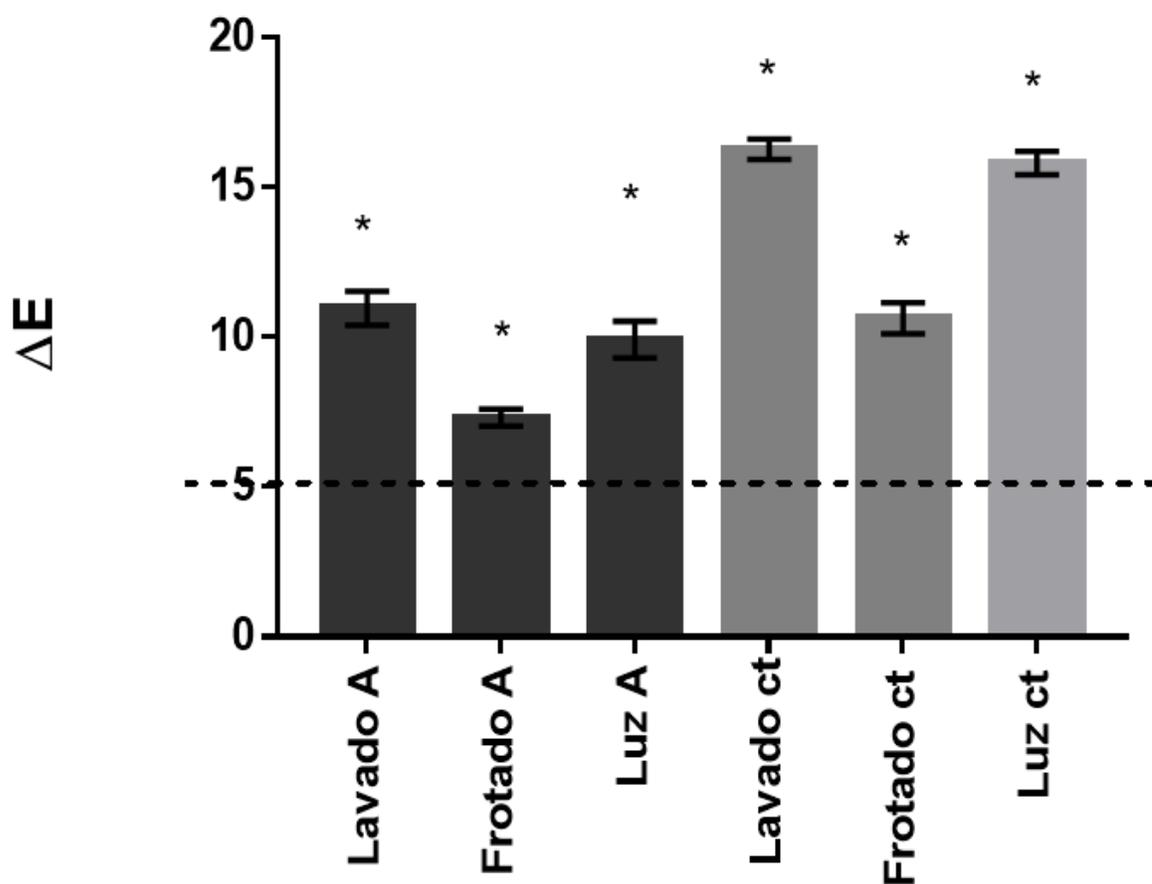


Fig 49 Cambio de color (ΔE) a partir de las fibras teñidas con extracto de Xoconostle mordentadas con alumbre (A) y crémor tártaro (CT) y después de realizar las diferentes pruebas, lavado, frotado y exposición a la luz. ANOVA $p < 0.05$.

DISCUSIÓN

El color es uno de los atributos más importantes de los productos, se ha considerado como indicador de calidad y determina frecuentemente su aceptación como en los productos alimenticios de cosmética y textil. Los pigmentos naturales presentan varias desventajas cuando se comparan con los colorantes sintéticos, incluyendo los altos costos de producción y baja estabilidad (Azeredo, 2009). No obstante, algunas personas han optado por los pigmentos naturales a los que se les considera no tóxicos e incluso saludables, dentro de estos pigmentos de interés para algunas industrias están las betalaínas

Las betalaínas son pigmentos hidrosolubles responsables no solo de la coloración brillante en las flores sino también en hojas raíces y frutos pertenecientes al orden *Cariophyllales* (Castellanos-Santiago y Yahina, 2008, Svenson et al., 2008; Gandía-Herrero et al; 2009): Existen dos tipos de betalaínas: betaxantinas de coloración amarilla, que son derivados de un ácido betalámico con una amina o un aminoácido y las betacianinas, que da coloraciones rojizas a moradas y en donde el ácido betalámico aparece condensado con un ciclo-dihidroxifenilalanina (ciclo DOPA) (Gandía-Herrero y García-Carmona, 2013).

Las betalaínas se obtienen en forma de concentrado o de deshidratado a partir de una extracción acuosa a pH ácido dado que son compuestos hidrosolubles, en el presente estudio tras diversas pruebas y estandarización se utilizó metanol como solvente, ya que posee polaridad parecida al agua pero que es más fácil de evaporar para concentrar las muestras y evitar las reacciones de oxidación que presentan los

pigmentos naturales cuando son expuestos a factores como la luz y el aire, además de un mayor rendimiento, lo que concuerda con Mandujano (2006) en donde utiliza disolventes como agua, metanol 80%, etanol 96% y éter petróleo para extraer los pigmentos presentes en la cáscara de *Stenocereus stelleatus*, en donde el mejor disolvente es metanol 80%, ya que ayuda a precipitar las pectinas presentes en la muestra y provee una mayor estabilidad a los pigmentos a diferencia del etanol. No obstante a lo largo de los trabajos realizados sobre betalaínas se han propuesto diferentes formas efectivas de extracción como lo menciona Sturzoiu (2011), encontrando mejores resultados al realizar extracciones con una solución acuosa de ácido cítrico 0.2% y ácido ascórbico 0.1% y una solución acuosa de etanol 20% y ácido cítrico 0.5%; Incluso se han utilizado levaduras para eliminar el alto contenido de azúcares como lo reporta Coultate (1984), al extraer el jugo del betabel y así estabilizar los compuestos.

Con la finalidad de identificar parcialmente y cuantificar los pigmentos presentes en los frutos se realizó un barrido espectrofotométrico con un intervalo de 400 a 600 nm puesto que las longitudes de onda correspondientes a las betaxantinas (483nm) responsable de las coloraciones amarillas y betacianinas (538nm) que dan coloraciones rojizas se encuentran dentro de este rango, lo antes mencionado se debe a que las betacianinas presentan una conjugación más amplia con relación a sus dobles enlaces, en comparación con las betaxantinas que contienen menos enlaces conjugados y que debido a esto, el máximo de absorción de luz se identifica a una menor longitud de onda (Orellana, 2015). Así, se confirma la presencia de estos compuestos y se observa que el extracto del fruto del Nopal serpiente

únicamente presenta un pico que abarca desde los a 480 y 580 con el punto máximo de absorción a 537 nm, lo que habla mayormente de la presencia y concentración de betacianinas con 0.518 mg/g de extracto y una menor concentración de betaxantinas (0.212 mg/g). El extracto del Xoconostle presenta dos picos a 486 y 533 nm, lo que resulta en una concentración importante de betaxantinas 0.253 y 0.166 mg/g de betacianinas, para los siguientes extractos las absorbancias fueron más pequeñas, en el caso del extracto del Cardón los picos de absorbancia se registraron a 490 y 536 nm y se cuantificaron 0.102 mg/g de betacianinas, por último en extracto del Garambullo se observaron los picos más pequeños (482 y 536 nm) por ende las menores concentraciones de betacianinas y betaxantinas (0.074 y 0.044 mg/g respectivamente).

Existen algunos resultados reportados por diferentes autores sobre la concentración de betalaínas en estas especies como Perez-Loredo y colaboradores en 2017 que realizan estudios sobre un extracto acuoso de *Stenocereus stellatus* e identifican concentraciones de 200.4 y 223.2 mg/100g ps (peso seco) de betacianinas y betaxantinas, respectivamente, en mediciones de pulpa sin semilla, para el caso de las lecturas de pulpa con semilla obtienen 188.2 (Bc) y 231.6 (Bx) mg/100g ps, manteniendo una proporción mayor de betaxantinas en ambos casos, siguiendo el mismo patrón en lo presentado en el actual trabajo para esta especie (0.253 (Bc) y 0.166 (Bx) mg/g). Para el caso del Garambullo, Gonzáles en 2010, indica una concentración de 9.7mg/100g de betaxantinas y 32.3 mg/100g correspondiente a betacianinas, resultados similares en la proporción en las concentraciones de los pigmentos a lo encontrado en esta tesis (0.074 (Bc) y 0.044 (Bx) mg/g). Por otro

lado Martínez y colaboradores en 2000 realizaron la caracterización del jugo natural de *Opuntia decumbens* en donde observan un solo pico de absorción entre 534 y 537, esto corresponde únicamente la presencia de betacianinas con 7.272 mg/g de jugo, concentración incluso mayor que el betabel; aseveración que concuerda con los presentes resultados en donde existe mayor concentración de betacianinas que las otras dos especies estudiadas y añadiendo la presencia de betaxantinas en la composición química de esta especie. En antecedentes de otras especies se han reportado concentraciones variables de compuestos betalámicos, tal es el caso de *Opuntia dinellien* donde el contenido de betalaínas corresponde a 7.55 mg/100g de betaxantinas mientras que 24.18 mg/100g son betacianinas (Betancour, 2015), en el caso de *Opuntia ficus indica* variedad morada se reportan 254 mgEB/L (equivalentes de betanina por litro) de betacianinas mientras que el contenido de betaxantinas es 85.4 mgEI/L (equivalentes de indicaxantina por litro). Stintzing y colaboradores (2005), reportan diferentes contenidos de betalaínas en cuatro cultivares de *Opuntia* spp. de diferente color, en el caso del cultivar verde presenta 0.4 mg/L de betaxantinas y 0.02 mg/L de betacianinas, para el cultivar Naranja el contenido de betaxantinas es mayor con 76.3 mg/L y apenas 6.6 mg/L de betacianinas, el cultivar rojo presenta 67.9 mg/L de betaxantinas y 120 mg/L para betacianinas, por último la variedad morada alcanza los 431 mg/L de betacianinas y 195.8 mg/L de betaxantinas. Como se puede observar, en los casos de frutos de *Opuntia* rojo-púrpura predominan las betacianinas sobre las betaxantinas.

La diferencia entre los valores de los diferentes estudios puede deberse a variaciones metodológicas en la obtención del extracto, por ejemplo, la extracción

acuosa de cada especie en comparación a otra va a ser diferente debido a que la composición de cada matriz vegetal siempre será única (Betancour, 2015), también puede influir la zona de colecta, la forma de almacenaje (Temperatura y luz) e incluso la temporada del año en que fueron cosechados los frutos.

Cabe mencionar que de acuerdo a la industria de los colorantes naturales, el jugo concentrado de betabel es el principal recurso de betalaínas en el mercado (EFSA, 2016), no obstante sería preciso proponer a los frutos de cactáceas como fuente importante para la extracción de betalaínas y betaxantinas, ya que existen especies con alto contenido y gran variedad de estas.

Los pigmentos extraídos fueron analizados por cromatografía en capa fina con una fase móvil: Isopropanol: etanol: agua: ácido acético (6:7:6:1), en donde únicamente en la muestra del xoconostle se observa de manera evidente presencia de betaxantinas, los dos factores de retención 0.60 (betaxantinas) y 0.65 (betacianinas), el extracto del nopal serpiente obtuvo un Rf de 0.65 correspondiente a betacianinas. Los factores de retención del extracto del garambullo son de 0.66. En otros estudios se ha llegado a diferentes aseveraciones como Orellana (2015), en donde separa los compuestos de *Beta vulgaris* encontrando Rfs de 0.75 y 0.33 para betacianinas y betaxantinas respectivamente con una fase móvil de isopropanol-etanol-agua-ácido acético en una relación de 20:35:40:5. Por otro lado Betancour (2015), señala tres compuestos con diferente Rf que corresponden a betacianinas (0.17), betaxantinas (0.3) e hidrocoloides (0.55) con una fase móvil de metanol: ácido fórmico 9:1 en la especie de *Opuntia dillenii*. La variación entre los resultados se debe a las diferentes fases móviles y la proporción, incluso las marcas

de las placas finas que se emplearon además de ser diferentes especies con las que se trabajaron. No obstante, en aquellos en los que se utiliza ácido acético en los disolventes se observa que la movilidad de la betalaínas en la placa se facilita debido a la protonación del grupo carboxílico de las betacianinas. El anión carboxilato proporciona un sistema eléctricamente neutro por su interacción con el nitrógeno cuaternario. El mismo efecto se observa para las betaxantinas. Como se observa en la placa preparativa al lograr aislar y separar los compuestos (Fig. 17), además las betacianinas presentarán mayor coeficiente de retención (R_f) que las betaxantinas, esto es debido a que las betacianinas poseen mayor polaridad que las betaxantinas por sus estructuras químicas, las primeras contienen dos grupos OH que proveen dos momentos dipolo a la molécula, en cambio las betaxantinas carecen de grupos OH y debido a esto, las betacianinas se unen con mayor fuerza al solvente (que es menos polar que la fase estacionaria) y recorren más distancia sobre la cromatoplaca (Orellana, 2015)

La caracterización de compuestos se realizó por medio de HPLC-DAD y HPLC-MS con la fase móvil: Agua/ácido fórmico y metanol, por el método propuesto por Castellanos y Yahia en 2008.

Las betacianinas representadas por betanina y su diastereoisómero C15 isobetanina, fueron las más representativas incluso con mayor abundancia que las betaxantinas en los extractos del Nopal Serpiente y Garambullo, estas fueron confirmadas primero por sus propiedades espectrales idénticas, por la presencia de sus iones moleculares protonados m/z 551 y por su prominente ion hijo (389,413) m/z (Castellanos-Santiago y Yahia, 2008) (Apéndice 1), debido a la presencia de sus

agliconas protonadas [betanidina +H⁺] o [isobetanidina +H⁺] (Wilcox et al; 1965). Por otro lado en el caso del Xoconostle el mayor pico corresponde a las betaxantinas con una absorbancia a 480 nm y un tiempo de retención de 25.72 min que, posiblemente indique la presencia indicaxantina, también contiene betanina e isobetanina en menor concentración. Pocos son los estudios en los que se ha hecho la caracterización fisicoquímica de estas especies, en donde se ha encontrado para el caso del Garambullo la presencia de Indicaxantina con el ion molecular [M+H]⁺ m/z 309, Muscarina con el ion molecular [M+H]⁺ m/z 349 y compuestos betalamicos asociados a Fenilalanina que se identificó con el ion molecular [M+H]⁺ m/z 359 por parte de las betaxantinas, mientras que en el grupo de las betacianinas se reportaron Betanina ([M+H]⁺ m/z 551), isobetanina ([M+H]⁺ m/z 551), filocactina ([M+H]⁺ m/z 637) e isogomferenina ([M+H]⁺ m/z 727) (Gonzalez, 2010), lo que concuerda con los compuestos encontrados en el presente estudio. En el caso del Xoconostle, se ha reportado gomferenina ([M+H]⁺ m/z 551), isogomferenina ([M+H]⁺ m/z 727), filocactina ([M+H]⁺ m/z 637), betanina([M+H]⁺ m/z 551), isobetanina ([M+H]⁺ m/z 551), iso-indicaxantina ([M+H]⁺ m/z 483) y una mayor concentración de indicaxantina ([M+H]⁺ m/z 309) (García-Cruz, 2017), resultado similar a los presentes cromatogramas. En el caso *Opuntia decumbens* se sabe que los compuestos mayoritarios corresponden a betacianinas (Martínez, 2000), mismas conclusiones que se presentan en este trabajo.

Ahora se sabe que el predominio de cualquier betalaína en la fruta de cactus varía entre géneros, por ejemplo, los frutos de *H. polyrhizus* tienen betanina y filocactina como betalaínas predominantes (Wybraniec et al., 2001). En *Opuntia* spp. la

betalaína dominante depende del color de la fruta; en materiales con pulpa color púrpura, como el cultivar Camuesa, las betalaínas dominantes son betanina e indicaxantina (Castellano-Santiago y Yahia 2008 y García-Cruz, 2017).

La temperatura puede considerarse como el factor más importante en la degradación de las betalaínas, en el caso de Xoconostle (Fig. 33) las consecuencias al elevar la temperatura se observan a los 80° y 90° C, donde se percibe un efecto de hipocromicidad e hipsocromicidad, una disminución en la intensidad de absorción y desplazamiento hacia el azul. En cuanto a las mediciones colorimétricas el ΔE más grande es a los 90°C (cuadro 17) con una coloración más anaranjada. En el caso del Nopal serpiente (Fig. 47) se observa un efecto hipocrómico, al llegar a los 80°C se empieza a observar otro pico de absorción a 420 nm, que se refleja en la colorimetría en donde a partir de los 80°C los pigmentos se vuelven ligeramente amarillos hasta llegar a los 90°, cuando el extracto se ha vuelto totalmente marrón. En este caso en particular Herbach et al. (2004), informaron que la degradación de las betalaínas generalmente va acompañada de un cambio marcado de color dando como resultado productos amarillos como el ácido betalámico (424nm). Por otro lado, en el caso del extracto de Garambullo (Fig. 61) presenta un comportamiento diferente, al aumentar la temperatura a 40 y 60°C se observa un ligero efecto hipercrómico, al aumentar más la temperatura, 80 y 90°C, es que se observa una hipocromicidad, incluso llegando a desaparecer los picos de absorbancia, colorimétricamente la muestra se observa amarillenta y con precipitados.

García (1998), menciona que la temperatura es un factor determinante en la estabilidad de estos compuestos, determinando lo anterior después de aplicar tratamientos estabilizantes como ácido ascórbico y cítrico en diferentes proporciones a extracto de garambullo a varias temperaturas (4° 25° 40° 60° 80° y 100° C), encontrando que a temperaturas de 80° y 100° ningún estabilizante ejerció efecto sobre los pigmentos; obtuvo tiempo de vida de entre 5.9 y 1.3 minutos respetivamente. Por otro lado, Mandujano en 2006 reporta que después de hacer mediciones durante 3 semanas de pigmentos de *Stenocereus stellatus* sometidos a 4° 25° y 60° pudieron observar que desde los 25°C existe una degradación del colorante desde la primera semana. Del mismo modo Robert de Mello et al. (2015), mencionan que al tratar el extracto de *Hylocereus undatus* a 100°C los pigmentos fueron degradados observando un cambio en la absorción máxima desde los 5 minutos y después de 30 minutos el pico de absorción ya no se observaba, concluyen que mientras mayor sea el tiempo de exposición mayor será la degradación siguiendo una reacción cinética de primer orden (Herbach et al., 2004), también mencionan que con el incremento de temperatura las muestras mostraron cambios en los parámetros L* A* B* debido a la degradación de las betalaínas color rosas a colores amarillos (Roberto de Mello et al., 2015)

En general las betalaínas permanecen estables hasta los 60 °C durante un periodo corto de tiempo, diversos autores han sugerido que el aumento en la temperatura sobre betanina, la estructura más abundante de las betacianinas, puede generar dos productos, ácido betalámico y ciclo-DOPA-5-Oglucósido, del mismo modo las causas de degradación de las betalaínas por temperatura pueden ser

isomerización, descarboxilación o como se mencionó anteriormente, ruptura de la molécula resultando en una reducción gradual del color rojo y dando lugar a coloraciones marrones o amarillas (Herbach et al., 2006)

En cuanto a aspectos estructurales han sido más estables las betacianinas que las betaxantinas a temperatura ambiente y a altas temperaturas (Herbach et al., 2004). Comparado la estabilidad de diferentes betacianinas en calentamiento se evidenció que las estructuras glicosiladas son más estables que las agliconas, debido a que los azúcares unidos a la aglicona protegen a la molécula de la hidratación evitando así su degradación (Von Elbe et al., 1975). Además, algunos estudios han indicado que la estabilidad de la betacianina también se incrementa por la presencia de ácidos alifáticos o aromáticos, especialmente en la posición 6-O de la estructura, esto debido a que permiten la formación de estructuras tipo Sandwich que protegen del ataque del agua (Herbach, 2006).

Por otro lado, a pesar de que las betalaínas presentan un amplio rango de estabilidad en cuanto a pH (3 a 7) (Stintzin y Carle, 2004), las condiciones fuera de este intervalo inducen a la degradación de las betalaínas. En el extracto del Xoconostle (Fig. 41) los espectros de absorción muestran una tendencia a la disminución de la intensidad de absorción (efecto hipocrómico) y un desplazamiento hacia longitudes de onda más bajas, hacia el azul, (efecto hipocrómico), haciéndose más evidentes cuando los pigmentos son sometidos a pH alcalinos (pH 10), y en cuanto a las mediciones colorimétricas, existen cambios perceptibles (ΔE) desde un pH de 4 (cuadro 18), aunque las coloraciones marrones aparecen a partir de pH 7 y 10. Cuando se somete a cambios de pH el extracto del Nopal serpiente (Fig. 55),

se observa que aunque tiene una tendencia a disminuir la intensidad de absorción es hasta un pH alcalino (pH 10) que se observa un efecto batocrómico, es decir, a longitudes de onda mayores o un desplazamiento al rojo, lo que refleja claramente en el método de colorimetría en donde hay un ΔE importante hasta un pH alcalino (Cuadro 18). Un caso diferente se observa en el extracto de Garambullo (Fig. 69), en el que es evidente una tendencia a la disminución en la intensidad de absorción desde un pH de 5, posteriormente al llevarlo a pH 7 este efecto hipocrómico se vuelve más claro y al alcalinizar la solución se observa además de hipocromicidad, un efecto batocrómico al desplazar el espectro de absorción hacia el rojo.

Las conclusiones son parecidas a lo que reportan algunos autores donde mencionan que el efecto del pH en la degradación de las betalaínas está fundamentado teóricamente en que dentro de un rango de pH de 4 a 6, la menor cantidad de oxígeno es observado; fuera de este rango de pH, el número de moles de oxígeno excede el número de moles de betanina en solución. Fuera del rango de pH de 4 a 6 la betanina es más fácilmente degradada a Ciclo dopa-5- glucósido y ácido betalámico y ambas especies son susceptibles a degradación oxidativa (Huaman, 2014; Herbach, 2006). En la degradación de la betanina se ha demostrado que en un intervalo de pH 3 a 7, el color rojo de la solución permanece inalterado con un λ máx de absorción entre 537–538 nm, cuando el pH es menor a 3, el color cambia a violeta y el λ máx es desplazado a 534–536 nm, ocurriendo un decrecimiento en la intensidad; cuando el pH es llevado arriba de 7 el color de la solución se hace más azulado, habiendo un desplazamiento batocrómico en el λ máx, siendo mayor el efecto a pH 9 donde el λ máx ocurre a 543-544 nm. Mientras

que para un medio aún más alcalino (pH mayor a 10) hay un decrecimiento en intensidad en el $\lambda_{\text{máx}}$ de 540-550 nm y hay incremento en la absorción a 400-460 nm debido a la liberación del ácido betalámico, el cual es amarillo; por lo que hay un cambio de color azul a amarillo como resultado de la hidrólisis alcalina de betanina a ácido betalámico y ciclo dopa-5-*O*-glucósido (Herbach et al; 2006). Lo antes mencionado, concuerda con en el caso del nopal serpiente puesto que el componente mayoritario es betanina.

Esto explica por qué en condiciones alcalinas ocurre una hidrólisis en el enlace de aldímida mientras que cuando ocurre una acidificación se induce una recondensación del ácido betalámico y del compuesto amina (betaxantinas) o ciclo DOPA (betacianinas) (Herbach et al., 2006) pero esta reacción es parcialmente reversible de acuerdo con el pH, es decir existe un punto (muy alcalino) en el que es imposible la recompensación y el color permanece amarillo. Por otro lado, en condiciones de acidez se induce la isomerización C₁₅ de betanina y betanidina en isobetanina e isobetanindina respectivamente, también se ha reportado que las condiciones ácidas causan la formación de neobetanina (amarilla) (Herbach et al., 2006).

Los cambios cromáticos en las preparaciones betalámicas se pueden considerar como el resultado de varias reacciones de degradación y transformación (Herbach et al., 2006), por ejemplo, la isomerización de compuestos a las que se les considera una modificación estructural más que una reacción de degradación ocurre en ambos casos, acidificación y alcalinización, también se ha observado en extractos de betabel al que se ha aplicado altas temperaturas (Hilper et al., 1985; Herbach,

2006^a), otro mecanismo puede ser la desglicosilación que se ha observado a altas temperaturas (Stintzing y Carle, 2004), Las reacciones de hidrólisis como se comentó anteriormente, son evidentes en la ruptura del enlace de aldimina a pH mayores a 6 aunque también es importante en tratamientos térmicos (Schwartz y Elbe, 1983), la siguiente reacción es la descarboxilación, que teóricamente ocurre en los C₂ C₁₅ y C₁₇ de las betacianinas y en los C₁₁ y C₁₃ de las betaxantinas que se ha visto en tratamientos térmicos sobre betanidina, betanina e indicaxantina (Minale et al., 1965). Por último, la deshidrogenación se ha observado en procesos de transformación de betanina o isobetanina en neobetanina, que a pesar de estar dentro del grupo de las betacianinas tiene coloración amarilla (λ 470 nm) (Stintzing et al., 2005), recientemente se ha confirmado la formación de neobetanina después de someter a elevadas temperaturas el jugo de betabel bajo condiciones anaerobias (Herbach, 2004).

Es por esto que las betalaínas son usadas para dar color a productos que tengan corto tiempo de almacenamiento, empacados en reducida exposición a la luz, oxígeno y alta humedad, no sean sometidos a largos tratamientos térmicos y, además, sean vendidos en estado seco (Franco, 2004). Con la finalidad de probar la efectividad de estos compuestos en otro tipo de industria se tuvo como objetivo teñir fibras de lana mordentadas con cremor tártaro y alumbre y hacer pruebas de resistencia a ciertos factores como luz, agua y frotado en donde se observa que la fibras teñidas con Garambullo se tornan tenuemente a un color rosado con cualquiera de los dos mordientes aunque un color más intenso con Alumbre y más resistente a las pruebas sometidas, aunque la exposición a la luz es determinante

para la degradación del color en la tela en ambos casos. Por parte del nopal serpiente las fibras se tiñeron con colores rojizos en los dos casos siendo más intensa la coloración en aquellas mordentadas con crémor tártaro, al someter las fibras a las diferentes pruebas se observa que en el caso de aquellas tratadas con alumbre sufren mayores cambios al someterlas al lavado, es decir a una mayor pérdida de color, los factores determinantes para la intensidad del color en las fibras con crémor tártaro es el lavado y el frotado sin perder totalmente la coloración, para los dos casos existe una disminución en la intensidad al exponerlas a la luz. Por último las fibras teñidas con xoconostle resultaron con una coloración amarillenta con coloración más intensa utilizando alumbre como mordiente, los cambios más grandes se observan después de someter las fibras tratadas con crémor tártaro siendo más evidentes en la prueba de lavado y exposición a la luz. En todos los casos en los que se habla de una disminución en la intensidad de color los parámetros L^* aumentan y b^* disminuyen, es decir existe un desplazamiento de las lecturas hacia las coloraciones grisáceas en el espacio del color (CIELab*) que se asemejan al color de la lana natural.

Existen pocos estudios sobre la tinción de telas con betalaínas, un ejemplo es el realizado por Aly y El-Mohamedy (2011) que utilizan el extracto de *Opuntia lasiacantha* utilizando diferentes mordientes (sulfato ferroso, sulfato de cobre, dicromato de potasio y ácido tánico) en diferentes concentraciones (20, 40, 60, 80, 100 g/Kg), dando como resultado diferentes coloraciones desde amarillas verdes y rojas, también mencionan que es importante pre y post mordentar las fibras para tener mayores condiciones de teñido resultando en buena resistencia al lavado

friccionado y exposición a la luz. Guesmi et al. (2013), experimentan con Indicaxantina extraída de frutos de *Opuntia ficus-indica* como colorante natural en fibras de lana con un tiempo de teñido de 1.90 min durante 70°C, en donde las muestras teñidas interesantemente presentaban una propiedad fotoluminiscente, al someterlas a irradiación de luz con una lampara xenón y después de lavarlas causa un decremento en la fotoluminiscencia pero no desaparece esta propiedad, así proponen el empleo de indicaxantina como un colorante natural. Por otro lado Khalida y Hage (2016), realizan pruebas sobre la coloración de las fibras de lana al ser mordentadas con diferentes concentraciones de alumbre, dicromato de potasio, vinagre, amonio y sulfato de cobre, añadiendo directamente 2 concentraciones de la extracción acuosa del betabel (2.5 y 5 ml), y sometiéndolas a 93 °C y 100°C, así se obtienen coloraciones desde verde oliva, rojas, rosas, naranjas hasta champagne, así comprueban que variando el mordiente se pueden obtener diferentes tonalidades con estos pigmentos y que son un producto potencial para la industria textil, aunque no realizan pruebas de resistencia del color.

CONCLUSIONES

- Betanina e isobetanina son los compuestos mayoritarios que se obtuvieron en el extracto metanólico del Garambullo y Nopal serpiente.
- *El extracto del Nopal serpiente tiene mayor concentración de betacianinas que el betabel*
- El compuesto mayoritario del extracto del Xoconostle es indicaxantina

- Los pigmentos betalámicos de los frutos de *Stenocereus stellatus*, *Opuntia decumbens*, *Pachycerus weberi* y *Myrtillocactus geometrizans* permanecen estables o sin cambios de color drásticos en un intervalo de pH de 3 a 6.
- Los pigmentos betalámicos de los frutos de *Stenocereus stellatus*, *Opuntia decumbens*, *Pachycerus weberi* y *Myrtillocactus geometrizans* permanecen estables y sin cambios de color drásticos hasta los 60 °C
- Los mordientes si tienen efecto diferente en la fijación y tonalidad de los pigmentos sobre la fibra
- Los pigmentos permanecen en las fibras con menor intensidad después de realizar las pruebas de lavado, frotado y exposición a la luz, siendo esta ultima el factor más importante en la pérdida del pigmento en la lana

APENDICE 1

Cromatograma estándar betanina e isobetanina (CDS000584 Sigma-Aldirch), extracto

líoofilizado de betabel

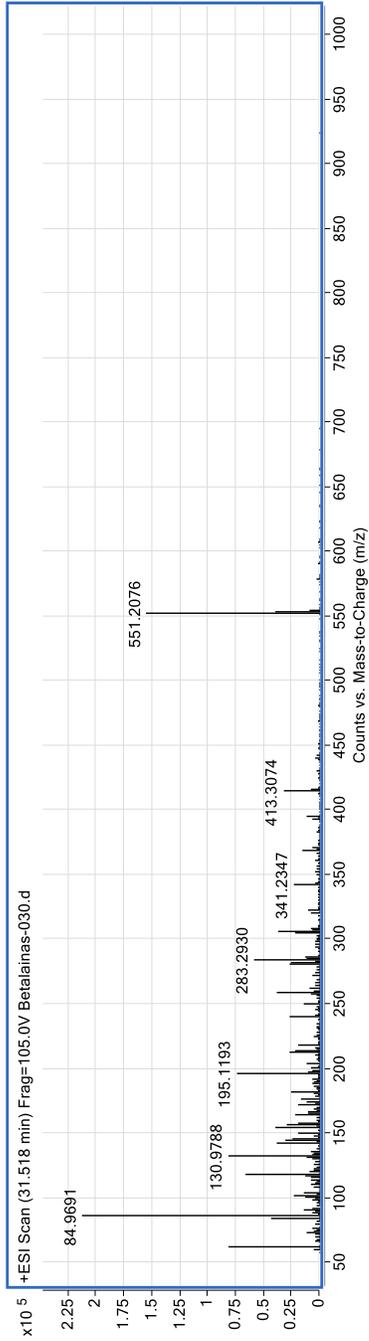


Fig 50. Cromatograma del estándar betanina por medio de HPLC-MS

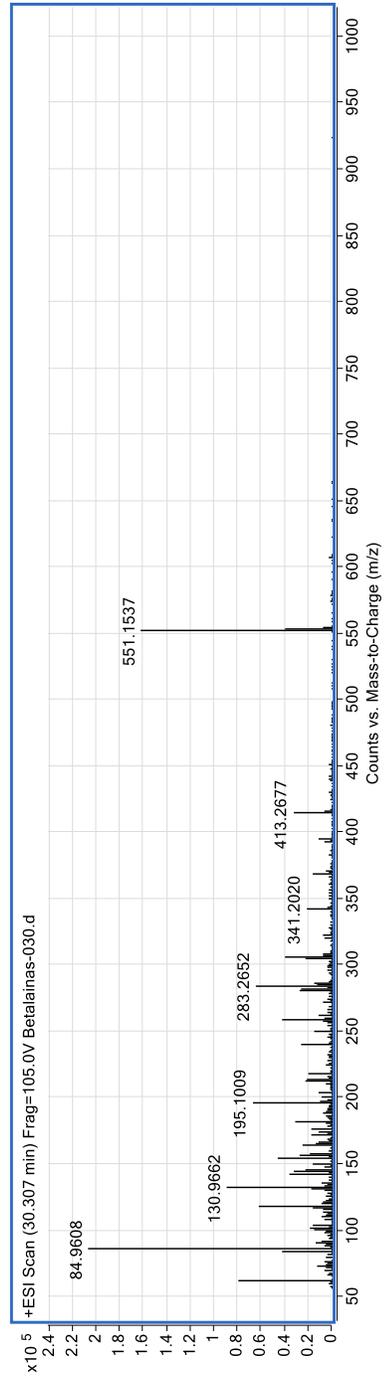


Fig 51. Cromatograma del estándar isobetanina por medio de

Cromatogramas de los extractos comparados con el estándar

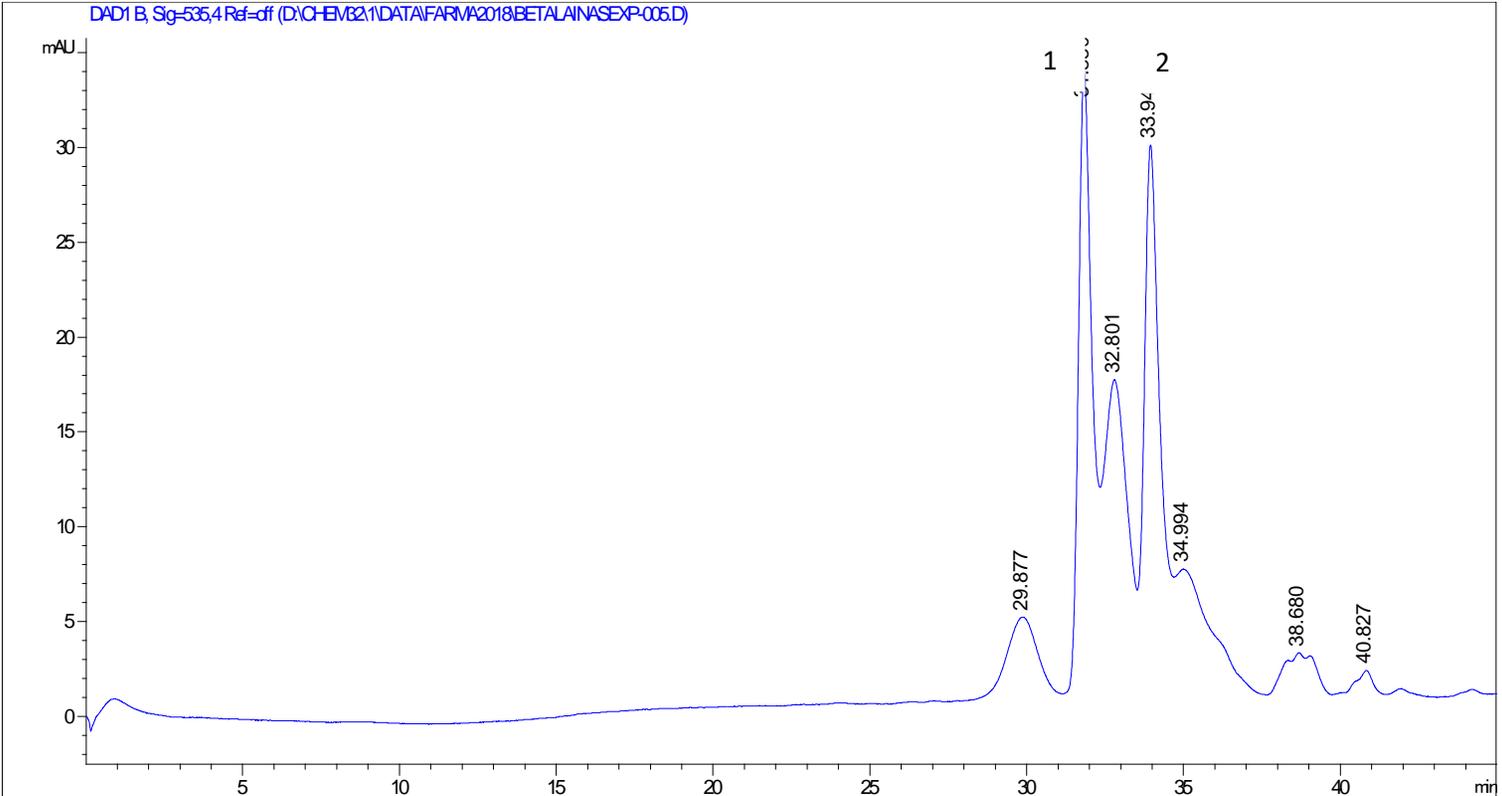


Fig 52. Cromatograma HPLC-DAD del estándar betanina(1) e isobetanina (2)

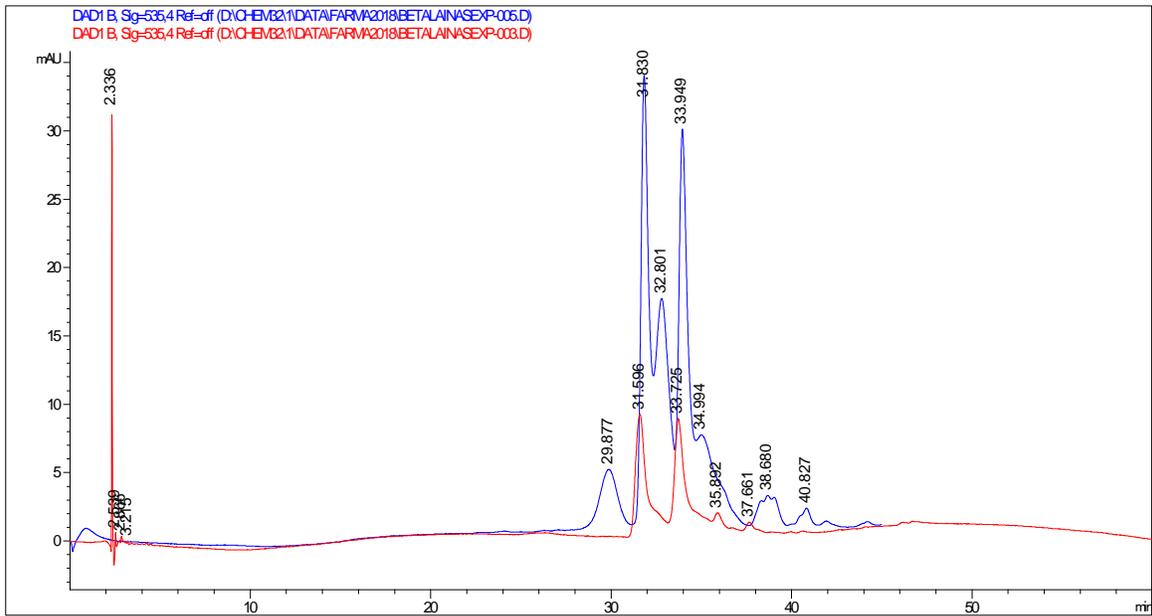


Figura 53. Cromatograma del estandar (Azul) (Betanina e isobetanina) y el extracto del Xoconostle (Rojo)

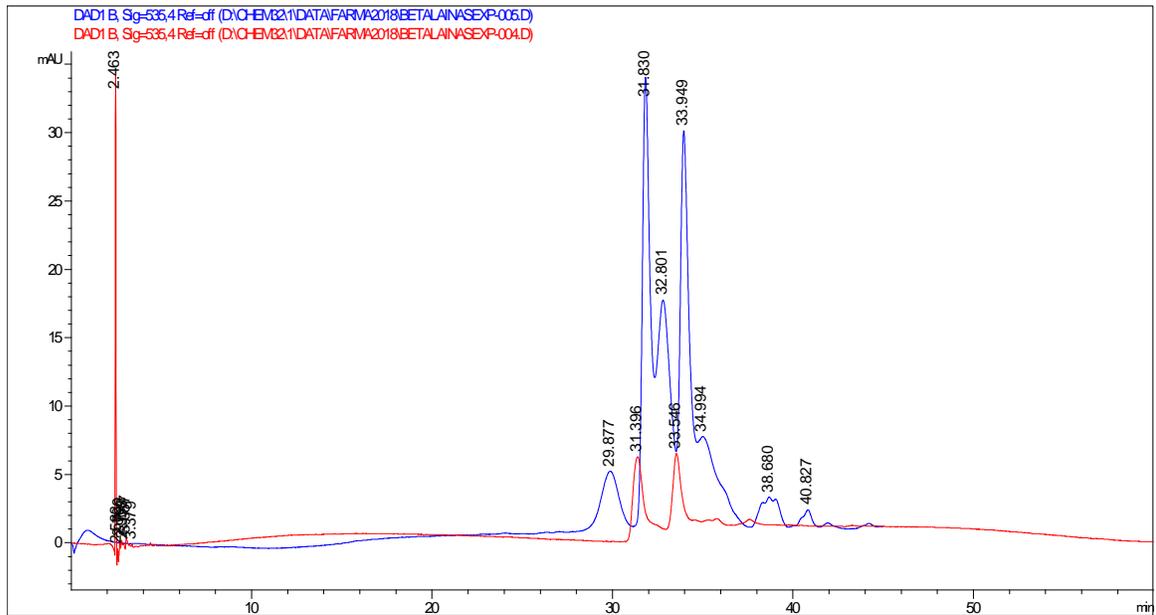


Figura 54. Cromatograma del estandar (Azul) (Betanina e isobetanina) y el extracto del Garambullo (Rojo)

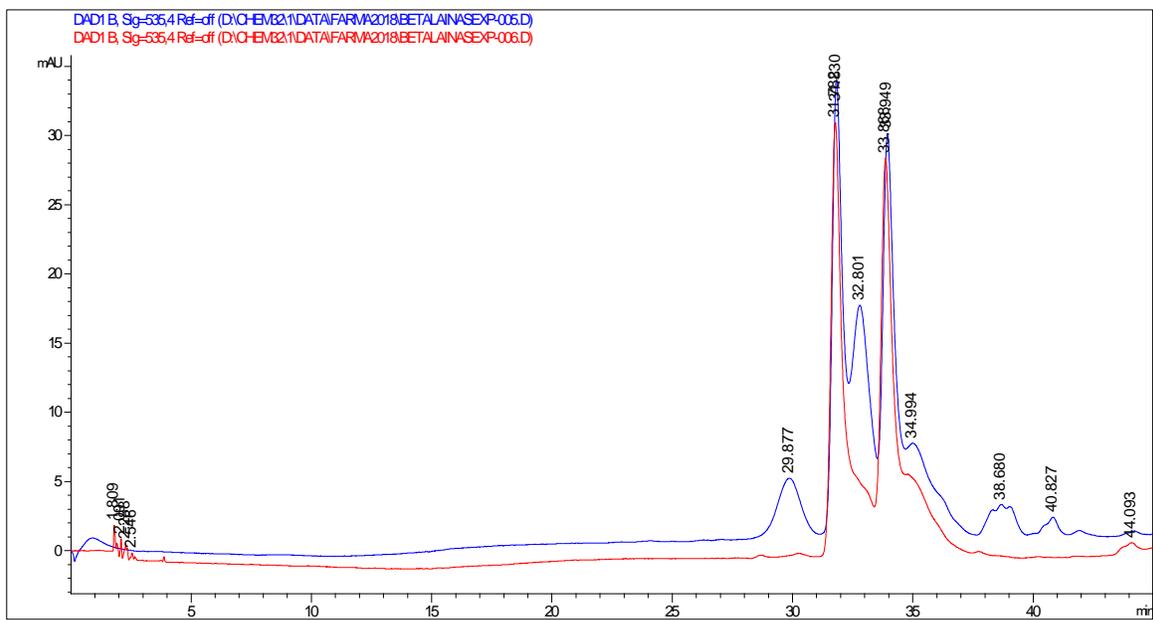


Figura 55. Cromatograma del estandar (Azul) (Betanina e isobetanina) y el extracto del Nopal serpiente (Rojo)

Apendice 2

Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente temperatura

Cuadro 20. Estabilidad del color (ΔE) a diferente temperatura

Fruto	40°C	60°C	80°C	90°C
Xoconostle	0.88±0.65 a	2.39±0.16 b	5.75±1.17 c	11.51±2.98 d
Serpiente	6.23±0.83 a	6.1±0.62 ab	5.54±0.21 ab	42.9±0.12 c
Garambullo	2.05±0.06 a	3.44±0.13 b	8.35±0.14 c	14.02±0.09 d
Cardón	3.9±1.02 a	4.81±0.53 ab	3.43±0.24 ab	15.85±0.26 c

Valores con la misma letra dentro de las mismas filas son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P < 0.05$

Estabilidad, Cambio de color (ΔE) a diferente pH

Cuadro 21. Estabilidad del color (ΔE) a diferente pH.

Fruto/pH	3	4	5	6	7	10
Xoconostle	4.13±0.06 a	8.10±0.29 b	17.38±1.72 c	9.83±0.26 b	22.09±0.57 d	24.86±1.01 e
Serpiente	3.70±0.21 a	7.70 ±0.23 b	7.43 ±0.04 c	8.13±0.12 d	8.62±0.13 d	40.84±1.51 d
Garambullo	3.33±0.33 a	2.82±0.05 ab	4.41±0.62 ac	6.27±0.86 d	13.06±0.50 f	22.62±0.34 g
Cardón	2.52±0.35 a	0.49±0.11 a	1.94±0.08 a	15±0.14 b	24.43±0.21 c	33.14±2.32 d

Valores con la misma letra dentro de las mismas filas son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey a una $P < 0.05$

BIBLIOGRAFÍA

- Alanís, F. G.J., y Velazco, M.C.G. 2008. Las cactáceas como recurso natural en el noreste de México. Ciencias UANL 9, 5-11
- Ali N.F. and El-Mohamedy R.S.R. 2011. Eco-friendly and protective natural dye from red prickly pear (*Opuntia lasicantha* Pfreiffer) plant. Journal of Saudi Chemical Society. 15: 257-261
- Attoe, E.L. y Von Elbe, J.H. 1981. Photochemical degradation of betanine and selected anthocyanins. Journal of Food Science 46, 1934–1937.
- Azaredo, H.M.C. 2009. Betalains: properties, sources, Applications, and stability- a review. International Journal of Food Science and Tecnology. 44. 2365-2376
- Badui, S. 2006. “Química de los Alimentos”. Cuarta Edición. Editorial Pearson Educación, México.
- Becerra R. 2000. Las cactáceas, plantas amenazadas por su belleza. CONABIO. Biodiversitas 32:15
- Betancour, R. O.C. 2015. Aislamiento, caracterización, estabilidad y actividad antioxidante in-vitro de los pigmentos tipo betalaínas del fruto de *Opuntia dillenii*. Tesis Químico. Colombia. 26-136
- Bjerkas E. 2004. Oftalmología Veterinaria. Segundo Seminario WSAVA. Programa de Educación Continuada. Ciudad de la Habana. Cuba. 22/11/04.
- Brockington, S.F., Walker, R. H., Glover, B.J., Soltis, P.S. Soltis, D.E. 2011. Complex pigment evolution in the Caryophyllales. New Phytologist. 190: 854-864

- Cai, Y., M. Sun, H. Wu, R. Huang, y Corke, H. 1998. Characterization and quantification of betacyanin pigments from diverse *Amaranthus* Species. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 46, 2017-2070.
- Carlson, N. R. 1996. Fundamentos de psicología y fisiología. Prentice-Hall Hispanoamericana, S.A. 3er ed. México. 150-160p.
- Castellanos-Santiago, E y Yahia, E.M. 2008. Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear cultivars by high-performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *J. Agric. Food. Chem.* 56, 5758-5764
- Cegarra, J.; Puente, P.; Valdeperas, J., Fundamentos científicos y aplicados de la tinte de materias textiles. Universidad Politécnica de Barcelona: Barcelona. ETSIT Terrasa. España, 1981.
- Célula del fotorreceptor [en línea] https://copro.com.ar/Celula_del_fotorreceptor.html
- Chacón, J. M., Leal, M. T., Sánchez, M., Bandala, E. R. 2002. Tratamiento de agua residual proveniente de industria textil mediante fotocátalisis solar. XXVII Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. México. Octubre 2002.
- Contreras, R.R. 2007. El origen del color en la naturaleza. Una introducción a la química del color. CODEPRE. Venezuela. 147pp
- Coultate T P. 1984. FOOD: The chemistry of its components. Burlington House, London: The Royal Society of Chemistry 113
- Díaz, M. Y. G. y Elias, G.N. M. 2009. Propuesta para la obtención de un colorante natural a partir de la pulpa seca del *Coffea arabica* (café). Tesis

licenciatura en Química y Farmacia. Universidad del Salvador. El Salvador.
121 pp.

- Dos Santos M., Maier, M. 2008. La química y color en los textiles. Universidad de Buenos Aires. Argentina 33 pp.
- Easton, J. P 1995. The dye maker's view, in Colour in Dyehouse Effluent. Society of Dyers and colourist. The Alden Press, Oxford, 9-21 p.
- EFSA ANS Panel (EFSA Panel on Food Additives and Nutrient Sources added to Food). 2016. Safety of the proposed extensión of use of beetroot red (E162) in food for special medical purpose in young children. ESFA Journal 14:5 4487
- Esquivel, P. 2004. Los frutos de las cactáceas y su potencial como materia prima. Agronomía Mesoamericana 15, 215-219
- Franco M.E. 2004. Caracterización parcial del pigmento rojo del fruto de la jiotilla (*Escontria chiotilla*); una cactácea subexplotada. Tesis Maestra en Biotecnología. Universidad Autónoma Metropolitana. México. 6-70
- Galindo, A.G.R. 2015. Análisis químico del colorante extraído de *Commelina dianthifolia* Delile como base para el estudio de patrimonio cultural. Tesis Maestra en Ciencias. UNAM. México. 4-23 p.
- Gandía-Herrero F., Jiménez-Atiénzar M., Escribano J. and García-Carmona F. 2009 Fluorescence detection of tyrosinase activity om dopamone-betaxantin purified from *Portulaca oleracea* (common purslane) flowers. J. Agric. Food. Chem. 57,2523-2528

- Gandía-Herrero, F y García Carmona. 2013. Biosynthesis of betalains: yellow and violet plant pigments. Trends in plant science. 18. 334-337
- Garcia B. F.A., Reynoso C.R. y González de Mejía E. 1998. Estabilidad de las betalaínas extraídas de garambullo (*Myrtillocactus geometrizans*). Food Science and Technology International. 4: 115-120
- García- Cruz, L., Salinas-Moreno, Y. y S. Valle-Guadarrama. 2012. Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en Pitaya de mayo. Rev. Fitotec.Mex. 32. 1-5
- García-Carmona, F. 2016. Betalainas 2005-2015: una historia con futuro por el Prof. Dr. D. Francisco García Carmona, académico numerario. Academia de ciencias de la Region de Murcia en: <http://www.um.es/acc/betalainas-2005-2015-una-historia-con-futuro-2/>
- García-Cruz, L., Valle-Guadarrama, S., Salinas-Moreno, Y. and Luna-Morales, C.C. 2016. 'Postharvest quality, soluble phenols, betalains content, and antioxidant activity of *Stenocereus pruinosus* and *Stenocereus stellatus* fruit. Postharvest Biology and Technology. 11 69-76
- González, N.C. 2010. Caracterización fisicoquímica del fruto de Garambullo (*Mytilocactus geometrizans*) tesis Maestro en Ciencias-Recursos Bióticos. Universidad Autónoma de Querétaro. México. 130 pp
- González-Aguayo E., G.R.Campos-Montiel, J.M. Pinedo-Espinoza, G. Aguirre-Álvarez y Hernández-Fuentes A.D. 2014. Estabilidad del color en extractos de diferentes genotipos de tunas rojas (*Opuntia spp.*). Revista Científica Biológico-Agropecuaria Tuxpan 2, 728-735.

- Guesmi, A. Ben hamadi, N., Ladhari, N.Saidi, F. Maaref, H. Skli F. 2013. Spectral characterization of wool fabric dye with indicaxantina natural dye: Study of the fluorescence property. *Industrial Crops and Products*. 46 264-267
- Herbach K M, Stintzing F C, Carle R. 2004. Impact of thermal treatment on color and pigment pattern of red beet (*Beta vulgaris* L.) preparations. *J Food Sci.*; 69: 491– 498
- Herbach K M, Stintzing F C, Carle R. 2006. Betalain stability and degradation –structural and chromatic aspects. *Journal of FoodScience*. v71, p.41–50,
- Hilper H., Siegfried M-A, Dreiding A.S. 1985. Total synthese von Decarboxybetalaine durch photochemische Ringoffnung von 3- (4-Pyridyl) alanin. *Helv Chim Acta* 68:1670-8
- Huaman, C. L.A. 2014. Evaluacion del tipo de solvente en el rendimiento durante la extracción de colorante natural de la cascara de Tuna morada (*Opuntia ficus*). Tesis Ingeniero en industrias alimentarias. Universidad Nacional del Centro del Perú, Perú 1-129
- Hughes N. M., Carpenter K. L., Cannon J. G. 2013. Estimating contribution of anthocyanin pigments to osmotic adjustment during winter leaf reddening. *J. Plant Physiol*. 170, 230–233.
- Hugues, B., Navaroli, F., Torres, M. 2008. La visión cromática en los animales. *Revista electrónica de Veterinaria* 11, 5-10.

- IMTA Instituto Mexicano de Tecnología del Agua. 2000. Tratamiento y reúso del agua en la industria química de colorantes y pigmentos. Informa Final Elaborado para la Cna. IMTA. Juitepec, Mor.
- Instituto Nacional para el Federalismo y el Desarrollo Municipal (INAFED) <https://www.gob.mx/inafed>
- Jain G and Gould K S. 2015. Functional significance of betalain biosynthesis in leaves of *Disphyma australe* under salinity stress. Environmental and Experimental Botany 109: 131–140.
- Jiménez, S.C.L. 2011. Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. Revista Digital Universitaria 12, 23.
- Kapadia, G.T.1996. Chemoprevention of lung and skin cáncer by beet root extract. Cancer Lett. 100:211-214
- Khalida, T. y Hague. M. 2016. Isolation of natural dye from beet root and its application on wool and thread with diferent mordants at diferent temperaturas. Journal of international Advances in Engineering and Scientific Research 13 52-62
- Kuppusamy, LI. y Briones, R. 1997. Tratamiento anaerobio del agua residual de la industria. Congreso Interamericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Cancún, México.
- López, S.G. 2014. Extracción y actividad antioxidante del colorante natural de la pulpa del fruto de *Opuntia ficus-indica* “tuna morada” y su aplicación en crema chantilly. Tesis magister en Ciencias de los Alimentos. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Perú. 64 pp.

- Mandujano R.R. 2006. Estudio preliminar de los pigmentos presentes en cáscara de pitaya (*Stenocercus stellatus*) de la región mixteca. Tesis Ingeniero en alimentos. Universidad Tecnológica de la Mixteca. México. Pp. 07-29
- Martínez, C.M., Arellanes J.N., Vera, G.A.M. y Bautista, B. 2000. Obtención y caracterización de betalaínas en *Opuntia decumbens* Salm-Dyck. *Cactáceas y suculentas Mexicanas* 1 15-21
- Melgoza, R.M., A. Cruz y C. Buitrón. 2004. Anaerobic / aerobic treatment of colorants present in textil effluents. *Water Science Technology* 50, 149-155
- Minale, L., Piattelli, M., Nicolaus, R.A. 1965. Decarbossilazione térmica dei betaciani e delle betaxantine. *Rend Accad Sci Fis Mat* 32: 165-72
- Mizrahi Y., Nerd, A., Nobel, P.S. 1997. Cacti as crops. *Horticultural Reviews* 18, 291-320.
- Morones, R. J.R., M.V. Alvarado, R. O. L. Flores, C.J.F. Villareal, C.M.E. Cantú, y L. D. N Menchaca. 2015. Colorantes y pigmentos microbianos en la belleza cosmética. *Revista Digital Universitaria* 16, 1-4.
- Moßhammer, M. R., F.C. Stintzing, R. Carle. 2005. Development of a process for the production of a betalain-based colouring foodstuff from cactus pear. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 6:2 221-231
- Nakashima T, Araki T, Ueno O. 2011. Photoprotective function of betacyanin in leaves of *Amaranthus cruentus* L. under water stress. *Photosynthetica* **49**: 497–506.
- Nilsson, T. 1970. Studies into the pigments in beet-root. *Lantbrukshogskolans Annals*. 36, 179-219.

- Niño, J., Correa Y. M., Mosquera, O. M. 2006. Antibacterial, Antifungal and Cytotoxic Activities of 11 Solanaceae Plants from Colombia Biodiversity. *Pharmaceutical Biology* 44(1), 14-18.
- Ojeda A. 2012. Tesis Teñido de fibra de abacá (*Musa textilis*) utilizando colorante extraído de la cochinilla (*Dactylopius coccus Costa*). Universidad de Loja, Ecuador. 65 pp.
- Orellana L. M. B., 2015. Extracción y caracterización de los pigmentos naturales presentes en Beta vulgaris (Remolacha) para la propuesta una formulación cosmética y evaluación de su estabilidad fisicoquímica y microbiológica
- Paredes, M. B. I. 2002. Análisis y obtención del colorante natural a partir de la *Bacharis latifolia* (Chilca). Tesis ingeniero textil. Universidad Técnica. Ecuador. 137pp
- Pérez-Loredo M. G., Hernandez-De Jesús L. Barragan-Huerta B.E. 2017. Extracción de compuestos bioactivos de Pitaya de Mayo (*Stenocereus stellatus*) aplicando pretratamientos con microondas, ultrasonido y enzimático. *Agrociencia* 51:135-151
- Piatelli, M. Betalain. In: Goodwin, T. W., Ed., 1976. *Chemistry and Biochemistry of Plant Pigments*. Academic Press, New York. 1,560-596p.
- Pine, S.H., J.B. Hendrickson, J.D. Cram and Crammond, G.S. 1987. *Organic Chemistry*. McGraw-Hill International Book Company. USA. 187 pp.
- Real academia española [en línea] <http://dle.rae.es/?id=9qYXXhD> consulta: 29/08/1016

- Reyes, J.S., C.I. Brachet, J. C. Pérez y Guitiérrez, A. R. 2004. Cactáceas y otras plantas nativas de La Cañada Cuicatlán, Oaxaca. CFE, Instituto de Biología UNAM. 1 edic. 74- 111 p.
- Roberto de Mello, F., Bernardo, C., Odebrech, D. C., Gonzaga, L., Amante, E. R., Fett, R., Bileski, L. M. C. 2015. Antioxidant properties, quantification and stability of betalains from pitaya (*Hylocerus undatus*) peel. Ciencia rural 45 323-328.
- Robinson, T., G. McMullan, R. Marchant y P. Nigman. 2001. Remediation Of DyesIn textile Effluent: A Critical Review On Current Treatment Technologies With A Proposed Alternative. Bioresource Technology 77, 247- 255.
- Rojas, S. J. y Saucedo, A.C. 2012. Retinas y vítreo. El manual moderno. México. 10-13
- Roquero, A. 1995. Colores y colorantes de América. Anales del museo de América. 3, 145-160 pp..
- Sánchez, N.G. 2006. Extracción y caracterización de los principales pigmentos del *Opuntia juconoste* c.v. (xoconostle). Tesis Maestro en tecnología avanzada. Instituto Politécnico Nacional. México. 107 pp
- Schwartz S.J. y von Elbe, J.H. 1983. Identification of betanin degradation products. Z Lebensm Unters Forsch 176: 448-53
- Soriano-Santos, J, M.E.Franco-Zavaleta, C. Pelayo-Zaldivar, M.A. Armella-Vallalpando, M.L. Yáñez-López y Guerrero-Legarreta, I. 2007. Caracterizacion parcial del pigmento rojo del fruto de la "jiotilla" (*Escontria*

chiotilla [Weber] Britton & Rose). Revista Mexicana de Ingeniería Química.

6. 19-25

- Sponza, D. T. y Işik, M. 2004. Decolorization and inhibition kinetic of Direct Black 38 azo dye with granulated anaerobic sludge. Enzyme and Microbial Technology 34, 147–158.
- Stintzing F.C. y Carle, R. 2004. Functional properties of antocyanins and betalains in plants, food, and human nutrition. Trends food Sci Technol.15: 19-38
- Stintzing, F., Herbach, K., Moßhammer, M., Carle R., Yi, W., Sellappan, S., Akoh C. y Felker, P. 2005. Color, Betalain Pattern, and Antioxidant Properties of Cactus Pear (*Opuntia spp.*) Clones. Journal of Agricultural and Food Chemistry 53, 442-451.
- Stintzing, F.C.; A. Schliber y R. Carle. 2001. Phytochemical and nutritional significance of cactus pear. European Food Research and Technology 212, 396-407.
- Strack D., Vogh t., Schliemman W., 2013. Recent advances in betalain research. Phytochemistry. 62: 247-269
- Sturzoi A., Stroescu, M., Stoica a., y Dobre, T. 2011. Betanine extraction from *Beta vulgaris*- experimental research and statical modeling. Scientific Bulletin. 73(1). 145-156
- Supaka N., Juntongjin K., Damronglerd S., Delia M-L., Strehaino P.2004. Microbial decolorization of reactive azo dyes in a sequential anaerobic-aerobic system. Chem Eng. J., 99 169-176.

- Svenson, J. et al; 2008. Betalains en red and yellow varieties of the Andean tuber crop ulluco (*Ullucus tuberosus*). J. Agric. Food Chem. 56, 7730-7737
- Tista C.2007. Curso Post Congreso de Oftalmología Veterinaria. Consejo Científico Veterinario de Cuba. Ciudad de la Habana. 14/4/07.
- UNADEF Enciclopedia de las delegaciones y municipios de México, Oaxaca [en línea] <http://www.inafed.gob.mx/work/enciclopedia/EMM20oaxaca/index.html>. consulta: 1/09/16
- Van der Zee FP. 2002. Anaerobic azo dye reduction. Ph. D. thesis. Wageningen Universiteit. Netherlands. 154 pp.
- Vitoria-Matos A., Cobelli-Moreno D. 2001. Evaluacion del contenido y estabilidad de betalaínas en pulpa de fruto *Opuntia Boldinghii* Br. Et R. Tesis. Universidad Simón Rodríguez. Canoabo, Venezuela. 70 pp.
- Von Elde, J. H. 1975. Stability of Betalains as Food Colors. Food Technology 29, 42-46 p.
- Wang, J. 2006. Tendencias mundiales en la industria textil. Tomado de Industria de productos textiles. Enciclopedia de Salud y Seguridad en el trabajo. Coord. Ivester L. y Neefus J.
- Wilcox, M.E., Wyler, H., Dreiding, A. S. S. 1965. Stereochemie von betanidin and isobetanidin. Helv. Chim. Acta 48 1134-1147
- Wybraniec S., Platzer I., Gresh S., Gottlieb H. E., Haimber M. Mogilnirzki M. and Mizrahi Y. 2002. Betacyanins from vine cactus *Hylocereus polyrhizus*. Phytochemistry 58: 1209-121