



**UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO**



**PROPIEDADES DE LA *Hibiscus sabdariffa* E *Hydrangea macrophylla* COMO
SUSTITUTO DE LA HEMATOXILINA Y EOSINA**

AUTORES:

ARRIECHE GABRIELA
CARDOZO KARLA
DI GREGORIO MARIAN
TUTOR ESPECIALISTA:
MEDINA JHONNY

DOCENTE DE LA ASIGNATURA:
RODRIGUEZ ANA

NAGUANAGUA, 11 DE OCTUBRE DE 2021



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO



CONSTANCIA DE APROBACIÓN

Los suscritos miembros del jurado designado para examinar el Informe Monográfico titulado:

PROPIEDADES DE LA *Hibiscus sabdariffa* E *Hydrangea macrophylla* COMO SUSTITUTO DE LA HEMATOXILINA Y EOSINA

Presentado por los bachilleres:

ARRIECHE GABRIELA. CI. 27.658.443

CARDOZO KARLA. CI. 26.116.164

DI GREGORIO MARIAN. CI. 24.942.106

Hacemos constar que hemos examinado y aprobado el mismo, y que, aunque no nos hacemos responsables de su contenido, lo encontramos correcto en su calidad y forma de presentación.

Fecha 04/06/2021

Lago P. Rojas

Profesor

Lago Rojas

Al

Profesor

Alfonso Torres

Jose Rojas

Profesor

Jose Rojas



DIRECCIÓN



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO



**PROPIEDADES DE LA *Hibiscus sabdariffa* E *Hydrangea macrophylla* COMO
SUSTITUTO DE LA HEMATOXILINA Y EOSINA**

AUTORES:

ARRIECHE GABRIELA

CARDOZO KARLA

DI GREGORIO MARIAN

TUTOR ESPECIALISTA:

MEDINA JHONNY

AÑO: 2021

RESUMEN

Los colorantes son soluciones acuosas con la capacidad tintórea para colorear muestras biológicas y otros elementos. El *Hibiscus sabdariffa* es una flor de color rojo intenso que posee pigmentos como hibiscina y gopipetina usado mayormente como colorante en la industria textil. Por otro lado, la *Hydrangea macrophylla* también llamada hortensia obtiene su color mediante los nutrientes del medio donde nace y puede ser utilizada como colorante natural. La siguiente investigación tiene como objetivo general estudiar una alternativa sustentable de la coloración de rutina para cortes histológicos. Llevada a cabo bajo una investigación documental, se describen las propiedades de los colorantes derivados de las flores *H. sabdariffa* y *H. macrophylla* para la tinción de cortes histológicos. Asimismo, se explican los mecanismos de extracción de los colorantes naturales. La presente investigación da conocer para una futura inclusión de nuevos colorantes naturales en el estudio patológico.

Palabras clave: colorantes naturales, *Hibiscus sabdariffa*, *Hydrangea macrophylla*, Hematoxilina, Eosina.



UNIVERSIDAD DE CARABOBO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE CIENCIAS BIOMÉDICAS Y TECNOLÓGICAS
TSU HISTOTECNOLOGÍA
TRABAJO MONOGRÁFICO



**PROPIEDADES DE LA *Hibiscus sabdariffa* E *Hydrangea macrophylla* COMO
SUSTITUTO DE LA HEMATOXILINA Y EOSINA**

AUTHORS:

ARRIECHE GABRIELA
CARDOZO KARLA
DI GREGORIO MARIAN

TUTOR SPECIALIST:

MEDINA JHONNY

YEAR: 2021

ABSTRACT

Dyes are aqueous solutions with the dyeing capacity to color biological samples and other elements. *Hibiscus sabdariffa* is a deep red flower that possesses pigments such as hibiscin and gossypetin, mostly used as a dye in the textile industry. On the other hand, *Hydrangea macrophylla*, also called hydrangea, obtains its color from the nutrients of the environment where it grows and can be used as a natural colorant. The following research has as general objective to study a sustainable alternative of routine staining for histological sections. The properties of the dyes derived from *H. sabdariffa* and *H. macrophylla* flowers for staining histological sections are described. Likewise, the extraction mechanisms of the natural dyes are explained. The present investigation gives knowledge for a future inclusion of new natural dyes in the pathological study.

Key words: natural dyes, *Hibiscus sabdariffa*, *Hydrangea macrophylla*, Hematoxylin, Eosin

INDICE

CONSTANCIA DE APROBACIÓN _____	¡Error! Marcador no definido.
RESUMEN _____	IV
ABSTRACT _____	V
INTRODUCCION _____	1
LAS PROPIEDADES DE LA COLORACIÓN DE LA HEMATOXILINA Y EOSINA PARA CORTES HISTOLÓGICOS _____	6
LAS PROPIEDADES DE LOS COLORANTES DERIVADOS DE LAS FLORES HIBISCUS SABDARIFFA Y HYDRANGEA MACROPHYLLA PARA LA TINCIÓN DE CORTES HISTOLÓGICOS. _____	9
MECANISMO DE EXTRACCIÓN DE LOS COLORANTES NATURALES _____	12
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES _____	14
REFERENCIAS _____	15

INTRODUCCION

Desde hace años se observa relaciones entre la ciencia y la naturaleza, esto ha abierto nuevas posibilidades de análisis para los avances científicos. En el rubro de las carreras de la salud se encuentra la Histotecnología, que es definida como un conjunto de procedimientos empleados para el estudio microscópico de una muestra biológica con el propósito de visualizar cada una de las estructuras encontradas en la célula, a través de los distintos tipos de microscopios existentes. Unas de las últimas etapas en el procesamiento de tejidos es la coloración, que no es más que la técnica de los diferentes tipos de tinción para pigmentar célula, los colorantes naturales son todos aquellos pigmentos que tienen origen natural o vegetal (1).

En este el mismo orden, las coloraciones celulares son una etapa crucial en los exámenes histológicos, principalmente la coloración de (H-E). A lo largo de la historia el ser humano ha hecho uso de colorantes o pigmentos extraídos de flores y frutas con el fin de comunicarse o expresarse con sus iguales. Al estudiar la flora se descubre que existe un compendio de diversificación para la ciencia donde coloca al ser humano en una posición de conocer el vasto espacio de posibilidades existentes con ayuda de la naturaleza, específicamente de flores *H. sabdariffa* y *H. macrophylla* (2).

La planta *H. sabdariffa* es un arbusto anual de climas subtropicales y crecimiento está íntimamente relacionado con el pH del suelo donde nace, siendo este de pH básico y su recolección suele ser en el momento en que alcanzan un tono vinoso. Por otro lado, la *H. macrophylla*, cuenta con una característica muy especial, donde el pH del suelo en el que nace les confiere el color a sus flores, un pH ácido de entre 4,5 y 5,0 da como resultado una flor de tonalidad azul, mientras que en suelos más alcalinos de entre 6,0 y 6,5 las flores obtienen un color rosado (3).

Respecto a los colorantes empleados en histopatología, la elevada cantidad de químicos aumenta la probabilidad de daños a la estructura celular, provocando la pérdida de la muestra y en consecuencia perjudicando al paciente, puesto que

usualmente la muestra solo se puede obtener una vez, la pérdida de la muestra genera retraso en los resultados para la detección a tiempo de una patología, asimismo los numerosos reactivos llevan consigo un alto costo monetario. Tristemente las sustancias naturales con propiedades tintóreas se consideran escasas, debido a que solo unos pocos de ellos han sido comercializados esto dificulta la posibilidad de realizar el procedimiento histológico en un laboratorio de anatomía patológica (4).

En vista de la problemática que se plantea con anterioridad es de relevancia científica el estudio sustancias naturales alternativas que se asemejen en calidad, tinción y funcionabilidad a las propiedades de los colorantes sintéticos estándares preestablecidos en los laboratorios histopatológicos como lo es la coloración H-E con el fin de sustituirla en el procesamiento de tejido. De esta manera, se puede obtener un resultado confiable. Por lo tanto, el siguiente trabajo de investigación expone como objetivo general, estudiar una alternativa sustentable de la coloración de rutina para cortes histológicos.

Esto acarrea una mejora significativa que aminora los precios de adquisición de los colorantes para los laboratorios histológicos trayendo consigo una repercusión de índole económica en el costo de los exámenes en el área de salud, beneficiando a las poblaciones menos favorecidas, esto desembocaría en una disminución de la tasa de mortalidad debido a la detección a tiempo de patologías celulares. Del mismo modo está implicada una mejora en el ámbito educativo, ya que el profesorado universitario tendría una alternativa a mano, en el caso de no haber un colorante básico o ácido como la H-E. En este mismo orden de ideas ofrece una opción menos dañina para el procesamiento de tejidos (5).

Dicho esto, es imperante conocer a profundidad las características y propiedades de cada una de las plantas a utilizar, así como también, mencionar sus similitudes con la tinción de rutina H-E basado en los fundamentos químicos de esta. Es así, como se plantean los siguientes objetivos específicos que se desglosan de la siguiente manera: Describir las propiedades de la coloración H-E para cortes histológicos, conocer las propiedades de los colorantes derivados de las flores

Hibiscus sabdariffa y *Hydrangea macrophylla* para la tinción de cortes histológicos y, por último, explicar el mecanismo de extracción de los colorantes naturales.

Este estudio es llevado a cabo bajo los parámetros de una investigación documental, ya que cumple con un método científico y con los lineamientos sistemáticos de indagación, recolección, organización, análisis e interpretación de información o datos en torno a un determinado tema. Al igual que otros tipos de investigación, éste es conducente a la construcción de conocimientos (6).

Desde la época de la prehistoria el hombre fue capaz de realizar imágenes con figura humana, animales y objetos. Lo cual quedo grabado en un soporte físico. Los pigmentos naturales han sido empleados por la humanidad con diferentes propósitos, el principal de ellos era la expresión artística. Donde se utilizaban distintas flores y frutas para la realización de algún tipo de colorante que permitiera teñir diferentes superficies. Con el transcurrir de los años la raza humana ha innovado en este rubro, experimentando con superficies textiles o en el área alimenticia (7).

Históricamente los primeros indicios de pinturas se encuentran en Egipto en el año 1500 a.C donde los egipcios plasmaban en las paredes de sus templos religiosos o sepelios, la vida y obra de sus gobernantes o seres queridos. Afortunadamente con el correr de los años, la humanidad se ha preocupado más por utilizar productos naturales, debido a las reacciones adversas que los químicos ejercen sobre los organismos, como por ejemplo en el caso de los colorantes alimenticios que pueden ocasionar intoxicaciones, alergias y en casos severos estimular la producción de células cancerígenas (8).

En las primeras investigaciones se destacó colorantes naturales a base del pimiento dulce proveniente de España y Hungría. Posteriormente, China se catalogó como el país de mayor sembradío de amaranto, originando toda clase de sustancias a partir de este fruto incluyendo pigmentos. Sin embargo, durante el año 1856 la importancia de los colorantes disminuyo, cuando William Henry Perkin creo el primer colorante sintético. Este era de color purpura y fue bautizado como

mauveína. Posteriormente la técnica fue perfeccionada por científicos alemanes, dando como resultado que los colorantes naturales perdieran popularidad (8).

En Latinoamérica los mayores productores de colorantes naturales son: México, Perú, Argentina y Bolivia, gracias a la exigencia o preocupaciones de la población en hacer las comidas lo más sanas posibles, libres de aditivos químicos y por consiguiente más seguras. En Chile por otro lado innovó en la industria textil tiñendo con un colorante llamado carmín acético cuyos pigmentos se extraen a partir de la cochinilla. Sin embargo, con excepción de la industria textil y gastronómica, es notoria la falta de investigación en lo que se refiere a tinciones naturales para mejorar de los procedimientos químicos en el área de la salud, no solo en los laboratorios histológicos, sino también en los procedimientos de coloración microbiológicos (8).

En Venezuela se destaca un proyecto de grado con el fin de conocer de sobre el tema de colorantes naturales.

En el 2013 en Venezuela se llevó a cabo un proyecto cuya prueba piloto tuvo como objetivo proponer la incorporación del colorante *Bixa orellana* para la coloración de cortes histológicos, bajo una investigación experimental con una población de biopsias del laboratorio de histotecnología e histoquímica tisular C.A Maracay-Venezuela y una muestra de órganos como: riñón, piel, etc. Esta investigación dio como conclusión que en el caso de las muestras de esófago, riñón, piel y mucosa gástrica el resultado fue satisfactorio para su visualización microscópica, no siendo el mismo resultado para las muestras de ovario medular y resección transuretral donde existió menor diferenciación en las células que componían el tejido a estudiar (9).

En el año 2016 se realizó un estudio que lleva como el objetivo de describir el uso de colorantes naturales para el estudio de estructuras tisulares con el fin observar fibras musculares estriadas, empleando una solución de azafrán de vino, realizado mediante una recopilación de información con parámetros de una investigación documental. En dicho estudio se dictaminó que al día de hoy es más factible el

uso de colorantes naturales debido al bajo costo a comparación con los colorantes sintéticos (10).

Estos estudios guardan una íntima relación con los objetivos planteados en el actual trabajo, ya que ambos buscan de maneras diferentes resaltar la posibilidad y factibilidad del uso alternativo de colorantes naturales para la tinción de muestras histológicas, llevando de la mano sus respectivos procesos de extracción de colorantes. Teniendo en cuenta lo ya mencionado anteriormente es necesario conocer las propiedades homologables y comparables de las flores *Hibiscus sabdariffa* y *Hydrangea macrophylla* con la coloración de rutina H-E.

LAS PROPIEDADES DE LA COLORACIÓN DE LA HEMATOXILINA Y EOSINA PARA CORTES HISTOLÓGICOS

Los colorantes son sustancias con la capacidad de teñir y aportar un nuevo color a un alimento o tejido, estos suelen ser solubles en agua y pueden ser de origen sintético o natural. Estos últimos son los menos utilizados debido a la poca información sobre los mismos, entre tantos beneficios y propiedades que tienen los colorantes naturales se destaca el hecho de que poseen una baja tasa de riesgos tanto para el usuario como para el fabricante. La coloración histológica es una de las fases fundamentales para la visualización de las diferentes estructuras tisulares en las secciones de tejido para seguidamente realizar una descripción microscópica (11).

En este sentido, es importante destacar las características de la hematoxilina y eosina para la sustitución a colorantes naturales. La hematoxilina es un colorante natural que se extrae del corazón o duramen del árbol *Hematoxylon campechianum* o palo campeche utilizada para la tinción de estructuras tisulares, esta planta por sí sola no confiere color a la célula, por lo tanto, no es un colorante activo, primero debe ser oxidado para dar la hemateína y se emplea en la coloración de estructuras acidas que teñirá de color azul o púrpura, donde su pH es mayor a 6,0 por medio de la batería de coloración (12).

Esta sustancia es la que teñirá la cromatina del núcleo. Este proceso de oxidación se llama maduración se puede lograr casi instantáneamente con oxidantes químicos como el óxido de mercurio, el yodato de sodio, el permanganato de potasio, el peróxido de hidrógeno y el hipoclorito de calcio. Para que la hemateína funcione es necesario utilizar un mordiente, que son sustancias cuya estructura facilita la fijación del colorante sobre los tejidos, se utilizan mordientes que en su mayoría suelen ser sales bivalentes o trivalentes, como también se puede utilizar hidróxidos de metales (12).

La eosina es una tinción acida citoplasmática de fondo que pertenece al grupo de colorantes llamados fluoronas su funcionamiento fisicoquímico es parecido al de la hematoxilina, ya que está basado en la diferencia de cargas catiónicas y

anicónicas, al ser una solución de carga anicónica se adhiere a las cargas catiónicas del citoplasma por lo cual se unirá a cualquier componente amino. Este debe tener un pH no mayor a 4,0 o no logrará adherirse correctamente a la célula, la eosina crea contraste entre los tejidos, tiñendo el citoplasma de esta. Existen tres tipos de eosina, la eosina amarillenta o eosina Y, eosina azulada, eosina soluble en alcohol (13).

La primera en esta clasificación es la más utilizada en tinciones histológicas de rutina, La proporción de eosina Y, deber ser de un 44 % p/v diluido en agua al 2 % p/v en alcohol etílico y para una mayor concentración suelen prepararse al 1 % p/v. Esta es sustituible por la Eosina azulada, ya que los resultados solo varían en el color y el contraste de la célula, es por ello que se puede decir que la utilización de una o la otra, dependerá de la persona que esté realizando la tinción. Otras coloraciones alternas que pueden reemplazar a eosina Y son la eritrosina, azofloxina, floxina, o anaranjado G, siempre y cuando tengan concentraciones parecidas (13).

Para un mejor entendimiento de las ventajas del siguiente trabajo es necesario conocer el fundamento físico-químico en el que está basada esta coloración. El principio H-E consiste en la afinidad de cargas aniónicas y catiónicas. En las soluciones ácidas como lo es la eosina, predomina la carga negativa por lo cual ocurre un asociamiento con los componentes catiónicos del citoplasma. Del mismo modo ocurre con las soluciones básicas en el caso de la hematoxilina, por diferencias de cargas entre el núcleo y la solución se da una coloración en las estructuras aniónicas.

Esta coloración puede fijarse correctamente al tejido tisular pasa por un proceso químico, en una batería de coloración que consta de diversas sustancias donde la muestra debe permanecer una cantidad de tiempo determinada, a continuación, se explica a detalle el procedimiento a cumplir. Sumergir la muestra en xilol 2 veces por 10 min, alcohol al 100 % dos veces por 10 min cada vez, alcohol 96 % 10 min, alcohol 80 % 10 min, agua destilada 10 min, hematoxilina 3 min, agua de grifo 15 (min), agua destilada 2 veces por 10 min cada vez, eosina 30 (seg), agua

destilada 10 min, alcohol 80 % 10 min, alcohol 96 % 10 min, alcohol 100 % 2 veces 10 min cada vez y por último xilol 2 veces por 10 min cada vez (14).

LAS PROPIEDADES DE LOS COLORANTES DERIVADOS DE LAS FLORES *Hibiscus sabdariffa* Y *Hydrangea macrophylla* PARA LA TINCIÓN DE CORTES HISTOLÓGICOS.

El *Hibiscus sabdariffa* comúnmente llamada flor de Jamaica, es una planta pertenece a la familia de las malváceas originaria de África tropical de corteza roja, lóbulos estrechos, bordes agrietados y nervio central. Sus flores son de tonalidades rojizas en la base, yendo en degrade hacia los extremos. Como rasgo apreciativo se puede observar un cáliz carnosos de rojo intenso. Posee además una capacidad tintórea, al someterla un proceso llamado fotooxidación que se entiende como el proceso donde la luz estimula la formación de radicales de hidroxilo. Este arbusto crece en climas subtropicales donde el suelo es de pH mayor a 7. Aunque su origen es africano, esta planta es cultivable en Venezuela, ya que este país cumple con los factores climáticos requeridos para su crecimiento (15).

En el caso de que se presente la necesidad de ajustar el pH de la flor *H. sabdariffa* que crece en un suelo con características básicas, es conveniente utilizar hidróxido de sodio (NaOH). Para continuar con la investigación es necesario conocer la definición de la fitoquímica, que no es más que el acto de aislar las estructuras biológicas que producen las plantas, en el caso de la flor de Jamaica, esta posee aceites vegetales llamados fitoesteroles. Dentro de ellos se encuentran las antocianinas que pertenecen al grupo de los flavonoides definidos como compuestos químicos vegetales que confieren colores intensos a las plantas (15).

De la misma manera, es importante definir el concepto de antocianinas, el origen de este nombre viene del griego “Antho” que significa flor, mientras “Kyanos” significa azul, este término fue acuñado por Marquat en 1835 para referirse a los pigmentos de dicho color en las flores, tiempo después se develó que las flores de color rojo también poseían dicho elemento. La cianidina-3-glucósido es la antocianina principal responsable en gran medida del color rojizo característico de esta flor, también se puede apreciar la presencia de la Hibiscina, encargada de los

tonos naranjas/rojizos. Esta planta no contiene niveles de toxicidad en sus componentes químicos, ya que todos estos elementos son de origen natural (16).

En cuanto a la *Hydrangea macrophylla*, cuyo nombre significa “bebedora de agua” encuentra su origen en los bosques de Japón. Conocida popularmente como hortensia, es una planta herbácea de clima lluvioso y frío, cuenta con un tallo que florece de una roseta basal, llegando a ser leñoso, con una altura de entre 50 cm y 1,5 m. Sus flores individuales son soportadas por varios ejes y sus hojas tienen una apariencia dentada. Dentro de sus propiedades fitoquímicas se encuentran la antocianina como la definida 3-xilosilglucosido que es distribuida en una proporción de 1 antocianina por cada sépalo de la flor. Del mismo modo que la flor de Jamaica, aunque el origen de esta planta es asiático, es cultivable en Venezuela, debido a la variedad de climas encontrados en este país (17).

El suelo en el que nace les confiere el color a sus flores, un pH ácido de entre 4,5 y 5,0 da como resultado una flor de tonalidad azul, mientras que en suelos más alcalinos de entre 6,0 y 6,5 las flores obtienen un color rosado. Para el control efectivo del pH del suelo, se utiliza el aluminio y el fósforo ya que en los suelos donde hay mayor concentración de aluminio, más azules se tornan las flores, esto gracias a la acidez de los mismos. Del mismo modo, el colorante a base de las flores de la *H. macrophylla* es acidificable por medio de un concentrado de solución de ácido clorhídrico HCl (18).

Existen varios tipos de colorantes naturales: Las antocianinas, donde su pigmento va del azul y violeta hasta el rojo. Las betaninas, que poseen propiedades hidrosolubles, pero que la única aprobada actualmente es la de la remolacha. Los carotenoides, con tonalidades amarillentas/anaranjadas. Las clorofilas, de color verde. La curcumina que aporta un color amarillento intenso y el ácido carmínico, que su color es rojo intenso.

En este sentido se resalta la posibilidad de obtener colorantes naturales con los mismos fundamentos físico-químicos de la hematoxilina y eosina aplicados a los pétalos de las flores *Hibiscus sabdariffa* y *Hydrangea macrophylla*, ya que la

pigmentación que estas poseen, están influenciadas de gran manera por los nutrientes donde nacen, una flor de pigmentación azul o morada puede indicar que el terreno es altamente ácido, por el contrario el nacimiento de flores de tonalidades rojas o rosadas pueden indicar que el suelo tiene propiedades básicas.

Entonces, motivado a las similitudes entre las propiedades expuestas es considerable la elaboración de un colorante natural con el arbusto ornamental *Hibiscus sabdariffa*, específicamente con su flor de rojo intenso ya que se puede ajustar a propiedades básicas similares al colorante básico hematoxilina. Por otro lado debido a las propiedades acidas de la flor de *Hydrangea macrophylla* abre un camino de posibilidades para la elaboración de un colorante ácido como lo es la eosina.

MECANISMO DE EXTRACCIÓN DE LOS COLORANTES NATURALES

El ser humano desde tiempos remotos, ha tenido la necesidad de expresarse o comunicarse con sus iguales, uno de los motivos principales de esto fue la protección de la especie, ya que podían informar a los otros de los peligros existentes en la zona y de esa manera poder perpetuar la existencia de la humanidad. En la antigüedad recurrían a la utilización de dibujos en superficies como paredes en el ejercicio de la comunicación como especie. Analizando las pinturas y pigmentos que usaban en épocas pasadas se obtuvo como resultado que fueron extraídos de frutos rojos y flores por medio de un proceso de trituration (19).

Aunque para aquel entonces el ser humano no le había dado nombre a esa técnica, hoy los estudiados en la materia lo llaman extracción de colorantes por contacto y está basado en la aplicación de presión en la materia prima hasta lograr sacar un pigmento de esto. También se pueden encontrar otros métodos como la extracción de colorantes por contacto con solvente, que se basa en estudiar la materia prima y sus propiedades polares para posteriormente buscar un solvente polar o no polar que sea compatible con el material y se finaliza evaporando el solvente en un equipo de evaporación (20).

De la misma manera también existe la extracción de colorantes por soxhlet, que permite extraer colorantes en los tres estados de la materia, solido-liquido, liquido-liquido y gas-liquido siendo la más común solido-liquido. El equipo que se utiliza consta de cuatro partes de vidrio. La extracción comienza inicialmente colocando el solvente en el balón, la muestra es pesada y en vuelta en un cartucho de papel filtro, luego se coloca en la cámara de extracción, posteriormente cuando el solvente llegue a su punto de ebullición, se empezará a evaporar y llegara hasta el refrigerante, este se condensa y pasa a la cámara de extracción donde está la muestra, una vez que el sifón se llena, se produce la sifonación que se da cuando el solvente baja nuevamente al sifón (21).

Se dice que el proceso esta culminado cuando el solvente que ha ascendido al sifón tiene una apariencia transparente y de esta manera se produce la extracción.

Existen muchas plantas, algas y líquenes que producen colorantes, pero no están suficientemente concentrados o no poseen las mismas características para sustituir y así dar no solo una efectiva tinción, como lo son las plantas antes mencionadas es por esta razón que son relativamente escasos los que tienen importancia comercial por el costo (21).

En el caso del mecanismo utilizado para las flores de *H. macrophylla* y *H. sabdariffa* se realiza por medio de maceración, que es un proceso de extracción sólido-líquido. Donde el producto sólido también llamado materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido que son los que se pretende extraer. En general en la industria química se suele hablar de extracciones, mientras que cuando se trata de alimentos, flores, hierbas y otros productos para consumo humano se emplea el término maceración. Existen diferentes tipos como lo son maceración con calor y maceración en frío (22).

Para la extracción del *H. sabdariffa* y *H. macrophylla* se utiliza la maceración en caliente o también llamado proceso de infusión, que consiste en colocar los pétalos de la flor en contacto con un líquido a una temperatura mayor a la ambiental y menor al punto de ebullición o hervor, luego pasa por un proceso de filtración para eliminar los residuos (pétalos). Para posteriormente ser llevado a un equipo de evaporación donde se concentrará la solución (22).

A continuación, se enumerará y se especificará más sobre este proceso: Descongelar aproximadamente 200 g de la muestra, en el caso de la *H. sabdariffa* y *H. macrophylla* se deben pesar 100 g de flores, macerar en 100 ml de solvente extractor (etanol 95 %, ácido clorhídrico a 0,1 N en proporción 85:15), transferir 50 ml y hacer lavados de recipiente con 50 ml de solvente extractor, cubrir y guardar toda la noche a 4°C y filtrar. De este procedimiento se puede obtener aproximadamente 350 ml de extracto del colorante (22).

En relación a lo antes descrito, en Nigeria se realizó una investigación sobre el estudio del efecto de tinción de Roselle (*H. sabdariffa*) en cortes histológicos de

testículo, donde los resultados mostraron una mejor diferenciación nucleocitoplasmática en comparación a la tinción de rutina H-E (23).

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

De este trabajo monográfico se puede concluir que los principales pigmentos de las plantas *H. sabdariffa* e *H. macrophylla* son las antocianinas que tienen propiedades antioxidantes y no presenta actividad tóxica capaz de dañar, ni contaminar la muestra. Además, los residuos generados en el proceso de maceración de la extracción no conllevan problema alguno para el trabajador, ni para la salud, incluyendo los reactivos que se utilizan en cada procedimiento.

En relación al proceso de extracción, este trabajo monográfico genera un aporte y sirve como bases teóricas para futuras investigaciones científicas ya que al igual que la técnica HE, los resultados en teoría de la pigmentación celular con estas plantas son: Núcleo de la célula de color rojo intenso y citoplasma de misma, azul a morado, lo cual evidencia la posibilidad de uso en los protocolos de tinción usados en el laboratorio de Histotecnología. También se debe destacar que la clave de cualquier tinción tiene su inicio en su proceso de extracción, una mala extracción de un colorante puede resultar en una tinción deficiente y la posibilidad de un mal diagnóstico por parte del profesional. Es por ello que son una parte importante en la formación de cada colorante.

Se recomienda la ampliación de este trabajo monográfico a una investigación experimental de tejidos humanos e incorporar profesionales del área de química que evalúen el rendimiento de la extracción, así como también su pureza como colorante histopatológico siguiendo los procedimientos de bioseguridad adecuados para los laboratorios, como lo son: mantener el área limpia, usar guantes, lentes de protección, zapatos cerrados, bata de laboratorio, pantalones largos, en el caso de las mujeres el cabello recogido y lejos de la cara, para hacer de todo el procedimiento lo más seguro posible.

REFERENCIAS

- 1) Quintana A, Martínez A, Herique L, Goncalvez L, Rodríguez J, Guibert E. Acerca de las normas de organización y funcionamiento de los servicios y laboratorios de patología. Revista de la sociedad Argentina de la histotecnología. SAH. 2005 Jul; 16: 05. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2003/pt033b.pdf>
- 2) Olivera L, Rosales A. Capacidad de la tinción de la hematoxilina-eosina para detectar y diferenciar la morfología bacteriana a partir del diagnóstico histológico del camarón. Revista electrónica de veterinaria. 2013 Nov; 14:1-8 Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/636/63632378005.pdf>
- 3) Magali J. Propuesta de un extracto colorante a partir de hibiscus sabdariffa para ser utilizado en la industria textil. (trabajo de pregrado en línea). El Salvador; Universidad de El Salvador, facultad de química y farmacia; 2012. (citado el 1 de oct 2021) disponible en: <http://repositorioslatinoamericanos.uchile.cl/handle/2250/159241>
- 4) Moldovan S. Colorantes naturales para fibras textiles a partir de las algas. (trabajo de posgrado en línea). España. Univeritat politécnica de Valencia, facultad de ingeniería textil; 2016. (citado el 1 d oct 2021) disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/73893/MOLDOVAN%20-%20COLORANTES%20NATURALES%20PARA%20FIBRAS%20TEXTILE%20S%20A%20PARTIR%20DE%20ALGAS.pdf?sequence=1>
- 5) Peña J. Sistema de procesamiento digital de imágenes para la detección precoz del cáncer cérvico uterino. (trabajo de pregrado en línea). Chile; Universidad técnica Federico Santa María, Facultad de informática; 2018. (citado el 1 de oct 2021) Disponible en: https://www.mti.cl/wp-content/uploads/2018/12/Tesina_2018_Pe%C3%B1a-Juan.pdf
- 6) Alfonzo, I. (1994). Técnicas de investigación bibliográfica. Caracas: Contexto Ediciones disponible en: http://www.librosoa.unam.mx/bitstream/handle/123456789/2418/metodos_y_tecnicas.pdf?sequence=3
- 7) Hortensia L. Conocimiento ecológico local sobre colorantes de origen vegetal para el teñido de la fibra de henequén en Yucatán. (trabajo de posgrado en línea). México; Instituto politécnico nacional, Centro de investigación y de estudios avanzados. 2019. (citado el 3 de sep 2021)

Disponible en:
<https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/1487/SSIT0016204.pdf?sequence=1>

- 8) Tierra V. Extracción de colorantes naturales de camote, col morada y maíz morado para el uso de la industria de alimentos. (trabajo de pregrado en línea). Ecuador; Universidad superior politécnica de Chimborazo, facultad de ciencias; 2018. (citado el 1 de oct de 2021) disponible en:
<https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/1487/SSIT0016204.pdf?sequence=1>
- 9) Arias Y, Caricote M, Marturet M, Mendoza M. Colorante a base de Bixa Orellana para cortes histológicos. (trabajo monográfico en línea). Venezuela; Universidad de Carabobo, Facultad de ciencia de la salud; 2013. (citado el 9 de jun 2018). Disponible en:
<http://mriuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/handle/123456789/6425/yearias.pdf?sequence=1>
- 10) Avendaño J, Guevara Y, Herrera M, Ramos M. Uso de colorantes naturales para el estudio de estructuras tisulares. (Trabajo monográfico en línea). Venezuela; Universidad de Carabobo, Facultad de ciencias de la salud; 2016. (Citado el 9 de jun 2018). Disponible en:
<http://riuc.bc.uc.edu.ve/bitstream/123456789/5830/1/javenda%C3%B1o.pdf>
- 11) Chamarro G. Procesamiento de tejidos humanos mediante la utilización decoloraciones de rutina. (trabajo de pregrado en línea). Ecuador; Universidad nacional del Chimborazo, Facultad de ciencias de la salud; 2021. (citado el 23 de sep del 2021). Disponible en:
<http://dspace.unach.edu.ec/handle/51000/7975>
- 12) Vidal S. Tinción hematoxilina-eosina. (trabajo de postgrado en línea). España. Universidad nacional de educación a distancia, facultad de ciencias; 2017. (citado el 1 de oct 2021) disponible en: http://espacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:master-Ciencias-CyTQ-Ssantos/Santos_Vidal_Sara_TFM.pdf
- 13) Suazo I, Roa I. anatomía microscópica de las glándulas salivales por medio de una técnica histología convencional y no convencional. (trabajo de pregrado en línea). Chile. Universidad de Talca, facultad de ciencias de la salud; 2008 (citado el 05 de sep del 2021) Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-95022008000300029&script=sci_arttext

- 14) Toc R, Oliva E. extracción y cuantificación de colorantes naturales con aplicación agroindustrial y evaluación de su actividad antioxidante en rizoma de smilax clumingensis, calices de hibiscus sabdariffa y corteza de rhiophira mangle. (trabajo de pregrado en línea). Guatemala; Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de ciencias químicas y farmacia; 2013. (citado el 30 de sep 2021) disponible en: <https://biblioteca-farmacia.usac.edu.gt/Tesis/QF1310.pdf>
- 15)Castillo R. Efecto de uso del extracto de la flor de Jamaica (hibiscus sabdariffa) como colorante natural y fuente de antioxidantes de las características físico-químicas de yogur sabor a fresa. (trabajo de pregrado en línea). Honduras; escuela agrícola de panamericana Zamorano Honduras. Facultad de ingeniería; 2007. (citado el 23 de sep 2021). Disponible en: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6206/1/AGI-2017-014.pdf>
- 16)Yoshida K, Tayama-kato Y, Kameda K, Kondo T. Sepal color variation of hydrangea macrophylla and vacuolar pH Measured with a proton - selective microelectrode. Japon; Nagoya University, School of bioagricultural sciences; 2003. (citado el 09 de sep 2021) disponible en: <https://academic.oup.com/pcp/article/44/3/262/1864696>
- 17) Garzon G. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. (trabajo en línea). Colombia, Universidad nacional de Colombia; 2008. (citado 9 jun 2018). Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/3190/319028004002.pdf>
- 18) Cruz S, Sanchez A. Las pteridofitas del estado de hidalgo. Herreriana. 2007 abr; 3: 1-2 disponible en : http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-71512010000400001
- 19) Pino W, Guerrero J, Castro A, castro A, Palacios J, Castro A. Extracción artesanal de colorantes naturales, una alternativa de aprovechamiento. (trabajo de pregrado en línea) Colombia. Universidad tecnológica de Choco, Ciencias biológicas; 2003. (citado el 09 de sep 2021) Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/actabiol/article/download/26674/26963>

- 20) Puma huillca Y, hábiles M, Horacio A. evolución de la extracción por el método soxhlet y determinación de la estabilidad del colorante a partir de inflorescencias de kiwicha. (trabajo monográfico en línea) Perú. Universidad Nacional de San Antonio Abad del cusco, facultad de química; 2019 (citado el 15 sep 2021). Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/5110/253T20190835.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- 21) Jimenez A. Desarrollo de un proceso a escala de laboratorio para la extracción de colorante a partir de la flor del árbol de Majagua (*hibiscus elactus*). (trabajo de pregrado en línea). Colombia; Universidad EAFIT, Facultad de ingeniería; 2008. (citado el 9 jun 2018) disponible en: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/352/AstridElianaJimenezRamirez_2008.pdf;jsessionid=F57EA0B69245B644CF739D06D6814EA2?sequence=1
- 22) Marin S, Mejia C. Extracción de colorante a partir de la flor de Jamaica. (trabajo de pregrado en línea). Nicaragua; Universidad Nacional de ingeniería, Facultad de ingeniería química; 2012. (citado el 9 jun 2018). Disponible en: <http://ribuni.uni.edu.ni/619/1/37975.pdf>
- 23) Egbujo E, Yahaya A. Estudio de los efectos de tinción de la rosa de Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*) en cortes histológicos de testículo. Revista internacional de morfología. 2008 dic; 26:04. Disponible en: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022008000400022