

MÉTODOS FÍSICO-QUÍMICOS APLICADOS AL ANÁLISIS DE DROGAS CRUDAS. PARÁMETROS DE CONTROL DE LA CALIDAD.

Mediante el empleo de los métodos físico-químicos de análisis puede determinarse y establecerse la calidad de una droga, así como, completar su identificación.

Esta etapa de trabajo de laboratorio tiene como objetivo ejercitar a los estudiantes en la realización de métodos de análisis que permitan la evaluación de drogas crudas.

Para la realización de estas actividades es importante rememorar y aplicar los conocimientos adquiridos en las asignaturas precedentes.

La evaluación físico-química de las drogas comprende diferentes métodos, algunos de los cuales describimos a continuación.

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Introducción.

La presencia de exceso de agua en las drogas vegetales, puede promover el crecimiento de hongos, insectos y la hidrólisis de constituyentes que pueden provocar el deterioro de la droga.

Es por ello, que los límites en el contenido de agua debe ser determinado para las drogas vegetales, especialmente para aquellas que absorben fácilmente la humedad o en las cuales el deterioro puede ser promovido por la presencia de un exceso de agua.

Los límites de agua usualmente establecidos en las farmacopeas oscilan entre 8 y 14% con pocas excepciones. Los dos métodos más usados para determinar el contenido de agua en las drogas vegetales son el gravimétrico (pérdida por desecación) y el azeotrópico (destilación con tolueno). El método gravimétrico es el más fácil, pero no es aplicable a drogas que contengan sustancias volátiles. El método azeotrópico requiere de un equipo especial, lo cual comparativamente dificulta su uso, pero es aplicable a drogas que contengan sustancias volátiles.

A. PÉRDIDAS POR DESECACIÓN. MÉTODO GRAVIMÉTRICO.

Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestra una droga después de ser desecada en la estufa.

Parte experimental.

Materiales y Equipos.

- Balanza analítica vD 0,1 mg.

- Cápsula de porcelana
- Estufa u horno de calentamiento
- Desecadora.

Procedimiento.

De la muestra de laboratorio, con el grado de trituración que determine la norma específica, se pesan 2g con desviación permisible de 0.5 mg y se transfieren a una cápsula de porcelana previamente tarada y desecada a 105 °C hasta masa constante; seguidamente se deseca a 105 °C durante 3h. La cápsula se coloca en la desecadora donde se deja enfriar a temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1h, volviéndose a pesar, hasta obtener una masa constante.

Expresión de los resultados.

$$\text{Hg} = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Hg = pérdida en peso por desecación (%).

M₂ = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

M₁ = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M = masa de la cápsula vacía.

100 = factor matemático.

Los resultados se aproximan a las décimas.

B. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE AGUA. METODO AZEOTRÓPICO.

Se basa en la destilación por arrastre con tolueno, del agua contenida en la droga.

Parte experimental.

Materiales y reactivos. Equipos.

- Plancha eléctrica o fuente de calor
- Tolueno.
- Equipo del esquema (Fig 20)

Procedimiento.

A un balón de 500 mL se transfiere 200 mL de tolueno, se le añaden 2 mL de agua, se monta el equipo, se le añade tolueno al tubo colector hasta el cuello. Se coloca en la fuente de calor y se destila hasta que el volumen de agua en el tubo colector permanezca constante y se mide el volumen inicial de agua (V1). Se deja enfriar el tolueno (tolueno saturado).

De la muestra de ensayo pulverizada y tamizada, se pesan 10g, con un error máximo de 0.5 mg y se transfiere al balón que contiene el tolueno saturado de agua; se pone el equipo a la fuente de calor nuevamente y

se destila hasta que el volumen de agua en el tubo colector permanezca constante, midiéndose el volumen final de agua (V_t).

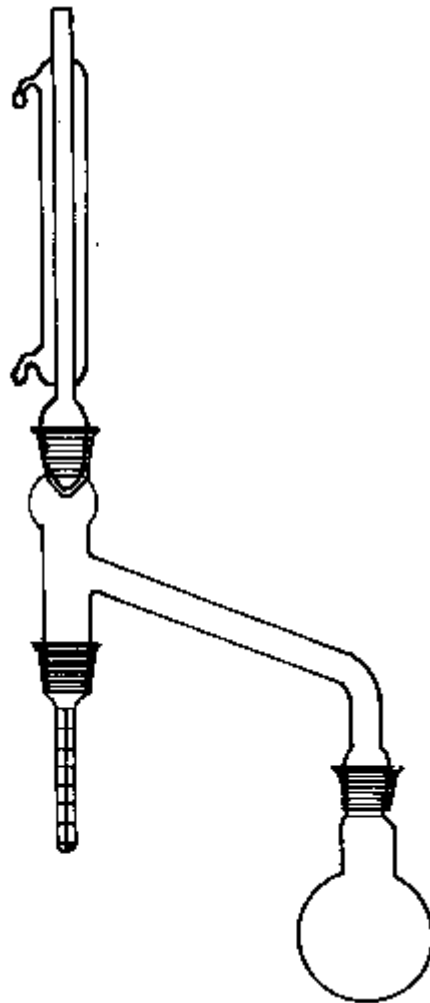


Fig. 20 Equipo de determinación de humedad. Método azeotrópico.

Expresión de los resultados.

$$H = \frac{V_t - V_1}{M} \times 100$$

H = Humedad residual (%)

V_1 = Volumen de agua inicial (mL)

V_t = Volumen de agua final (mL)

100 = Factor matemático.

Los resultados se aproximan hasta las décimas.

DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES, SOLUBLES EN AGUA E INSOLUBLES EN ÁCIDO.

Introducción

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica.

Las cenizas solubles en agua es aquella parte de las cenizas totales que se disuelven en agua y las ácido insolubles, el residuo que se obtiene después de la disolución de las cenizas totales en ácido clorhídrico al 10%.

Parte experimental

Materiales y reactivos.

- Crisol de porcelana o platino.
- Ácido clorhídrico al 10 %
- Trípode.
- Agua destilada.
- Triángulo de porcelana.
- Papel de filtro libre de cenizas
- Mechero.
- Acido nítrico reactivo.
- Mufla.
- Desecadora.

- Solución de nitrato de amonio 10g/100mL.
- Peróxido de hidrógeno concentrado.

A. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES.

Se determina la masa de no menos de 2.0g ni más de 3.0g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5mg en un crisol de porcelana o platino (en dependencia de la sustancia analizada) previamente tarado. Caliente suavemente la porción de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente incinere en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, si no se señala otra temperatura en la norma específica, durante 2h.

Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta que dos pesadas sucesivas no difieran en más de 0.5mg por g (masa constante)

Para obtener la masa constante los intervalos entre calentamiento y pesada son de 30min. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

Expresión de los resultados:

$$C = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

M = masa del crisol vacío (g)

M₁ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M₂ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

B. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA.

A las cenizas totales obtenidas en A, se le añaden de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapa y se hierve suavemente a la llama del mechero durante 5min. La solución se filtra a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carboniza en un mechero y luego se incinera en un horno mufla de 700-750 °C, durante 2h. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta alcanzar peso constante.

Expresión de los resultados.

$$Ca = \frac{M_2 - Ma}{M_1 - M} \times 100$$

Ca = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

M₂ = masa del crisol con las cenizas totales (g).

Ma = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M₁ = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

Los valores se aproximan a las décimas.

C. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO.

Procedimiento.

A las cenizas totales obtenidas según la técnica, se le añaden de 2-3 mL de ácido clorhídrico al 10%. El crisol se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10min. Se lava el vidrio reloj con 5mL de agua caliente y

se une al contenido del crisol. La solución se filtra a través de un papel de filtro libre de cenizas; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico p.a; al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1mol/L, no muestre presencia de cloruros. El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 105 °C, se transfiere al crisol inicial y se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700-750 °C durante 2h (si no se señala otra temperatura en la norma específica) Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener masa constante.

Expresión de los resultados

$$B = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

B= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

M = masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M₂= masa del crisol con la ceniza (g)

100= factor matemático.

Los valores se aproximan hasta las décimas.

DETERMINACIÓN DE SUSTANCIAS SOLUBLES.

Se basa en la extracción de las sustancias solubles en agua, alcohol o mezclas hidro-alcohólicas, mediante maceración y evaporación hasta sequedad de una alícuota del extracto.

Parte experimental.

Materiales y reactivos.

- Balanza analítica.
- Disolvente indicado (agua, alcohol o mezclas hidro-alcohólicas)
- Erlenmeyer de boca esmerilada con tapa 250 mL.
- Zaranda.
- Embudo.
- Pipetas de 20 mL.
- Papel de filtro.
- Cápsula de porcelana.
- Baño de agua.
- Estufa.

Procedimiento.

De la muestra de ensayo previamente pulverizada y tamizada, se pesan exactamente 5 g y se transfieren a un erlenmeyer de 250 mL; se añaden 100 mL del disolvente, se tapa y se agita durante 6 h, dejándose

en reposo hasta el día siguiente; se agita 30 min, se deja reposar alrededor de media hora más y se filtra por papel. Se toma una alícuota de 20 mL que se transfiere a una cápsula previamente tarada. Se evapora sobre baño de agua, se deseca en estufa a 105 °C durante 3h, se enfría y se pesa.

Expresión de los resultados.

$$Ss = \frac{R \cdot 500 \cdot 100}{M(100-H)}$$

Ss = sustancias solubles (%).

H = humedad de la muestra (%)

500 y 100 = factores matemáticos para los cálculos.

R = residuo de la muestra (g)

M = masa de la muestra (g).

Los resultados se aproximan hasta las décimas.

TAMIZAJE FITOQUÍMICO

Introducción.

En el desarrollo de esta actividad se persigue el aprendizaje y aplicación de técnicas de tamizaje al material vegetal fresco, seco o en forma de extracto blando o seco.

En este caso se emplea un esquema general que utiliza la extracción sucesiva con solventes de polaridad creciente. Para el desarrollo de esta actividad es necesario recordar las reacciones químicas estudiadas en las asignaturas precedentes y revisar otras reacciones de mayor especificidad para cada grupo en su libro de texto.

Parte experimental.

Materiales y reactivos.

- Gradillas
- Éter etílico
- Tubos de ensayo
- Etanol.

- Agua destilada
- Reactivos del tamizaje.

Procedimiento:

La planta fresca, seca o el residuo de una extracción; es sometida a tres extracciones sucesivas según el esquema de la Fig. 21, a cada extracto I, II y III, se le mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, esto es, gramos de sustancias extraídas por mL de extracto. Para ello tome una alícuota de 5 mL y páselo a una cápsula previamente tarada, evapore a sequedad en baño de agua y pese nuevamente. Se procede de igual forma que la técnica descrita para la determinación de sustancias solubles.

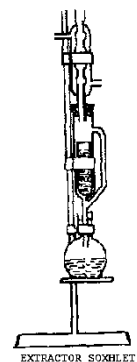
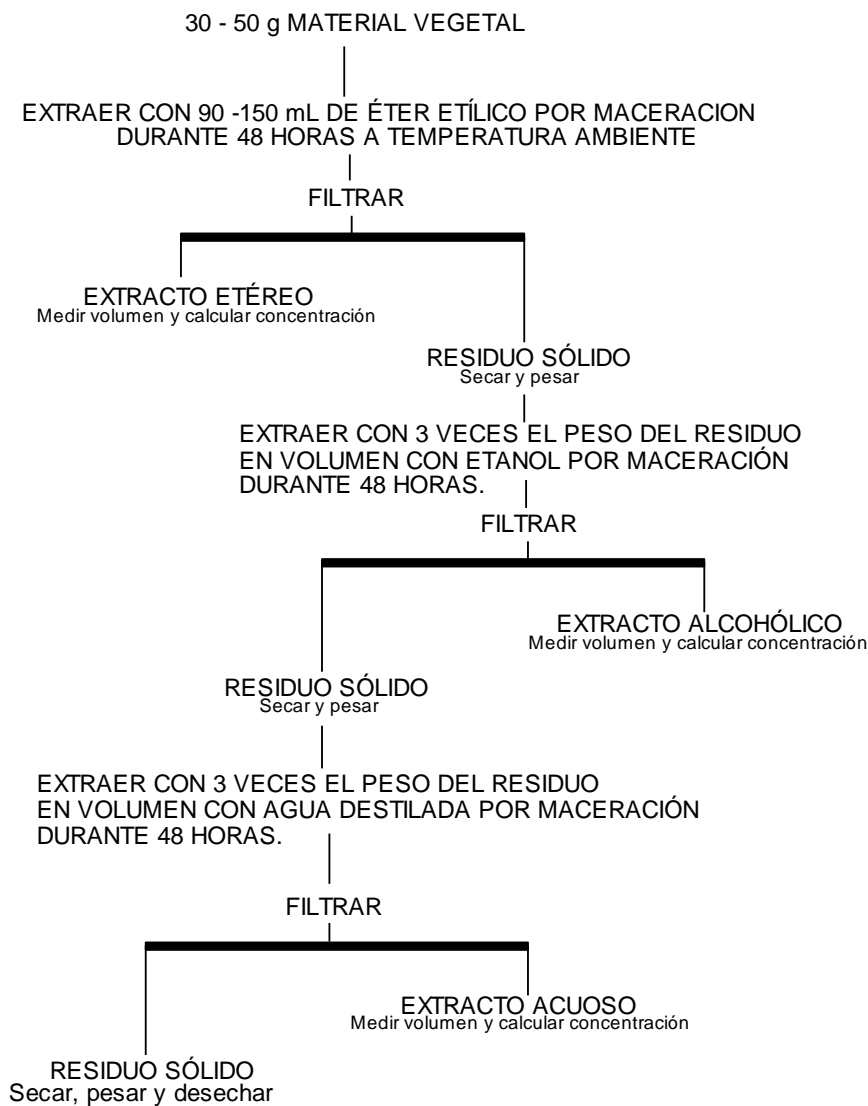


Fig. Extracción sucesiva del material vegetal para la aplicación de técnicas de Tamizaje Fitoquímico. Utilizando equipo soxhlet

Posteriormente en cada extracto por separado se procede de acuerdo a los esquemas representados en las Figuras. En cada caso para realizar los ensayos se procede de la siguiente forma:

Ensayo de Sudan: Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente.

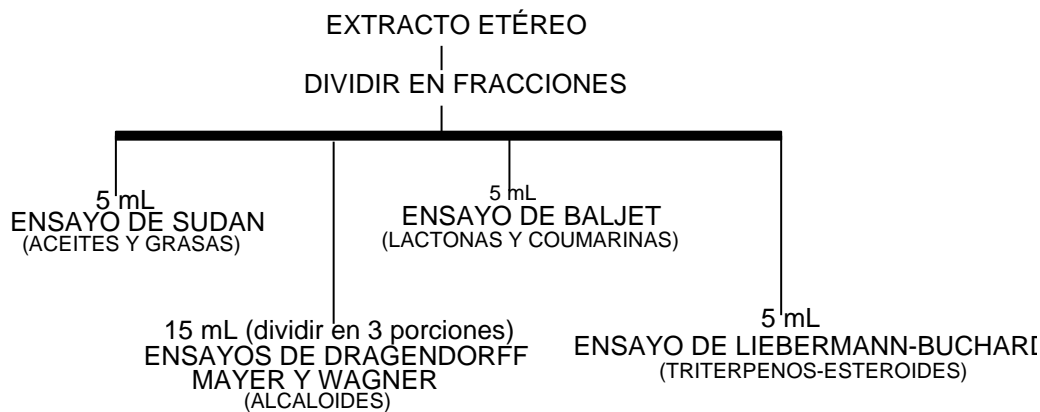


Fig. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico.

La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente.

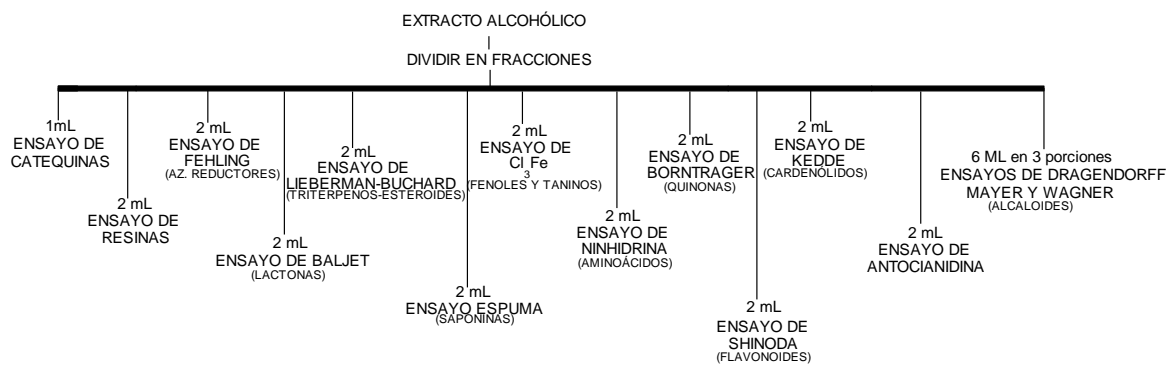


Fig. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.

Ensayo de Dragendorff: Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo,

añadiendo 3gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++), precipitado (+++).

Ensayo de Mayer: Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, si se observa opalescencia (+), Turbidez definida (++), precipitado coposo (+++).

Observación: En el caso de alcaloides cuaternarios y/o amino-óxidos libres, éstos solo se encontrarán en el extracto acuoso y para considerar su presencia la reacción debe ser (++) ó (+++), en todos los casos, ya que un resultado (+), puede provenir de una extracción incompleta de bases primarias, secundarias o terciarias.

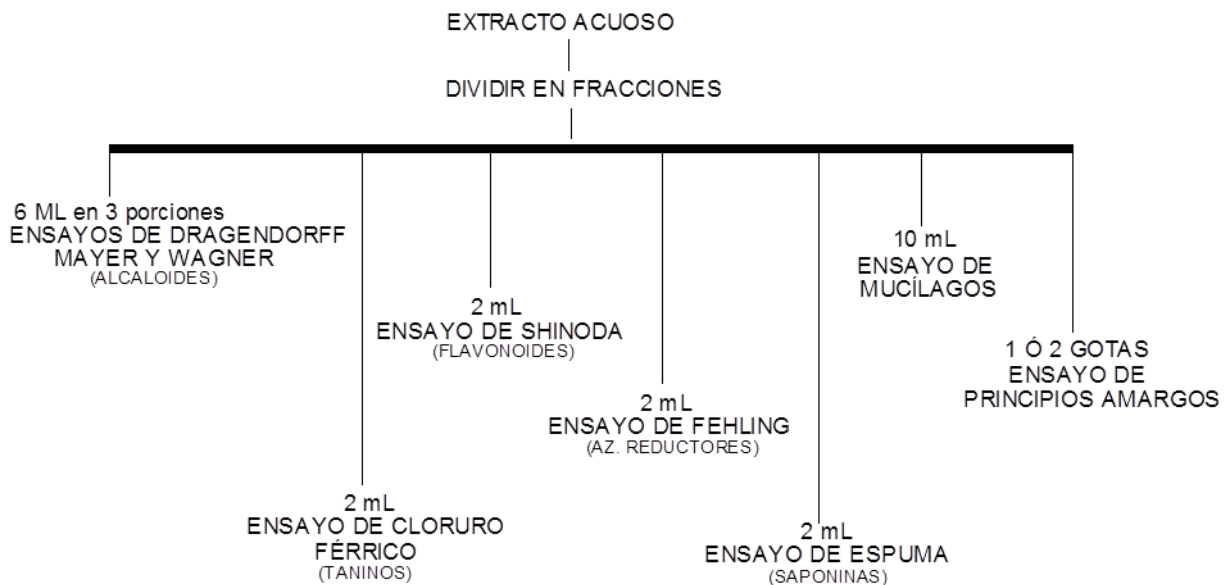


Fig. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso.

Ensayo de Wagner: Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma.

Ensayo de Baljet: Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Coumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL del reactivo, considerándose un

ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.

Ensayo de Hidroxamato férrico para coumarinas: Una gota del extracto se coloca en una placa de porcelana y se añade una gota de clorhidrato de hidroxilamina disuelto en etanol al 10 %. Se añaden unas gotas de hidróxido de potasio al 10% en etanol y se calienta a la llama hasta burbujeo, se añaden unas gotas de ácido clorhídrico 0.5 mol/L y una gota de cloruro férrico al 1% en agua. El desarrollo de una coloración violeta (+), claro (++) , intenso (+++).

El reactivo de Baljet se prepara de la siguiente forma:

Solución 1: Hidróxido de sodio al 10 % en agua.

Solución 2: Ácido pícrico al 1 % en etanol.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

Ensayo de Borntrager: Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).

Ensayo de Liebermann-Burchard: Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides, por ambos tipos de productos poseer un núcleo del androstano, generalmente insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

- 1- Rosado-azul muy rápido.
- 2- Verde intenso-visible aunque rápido.
- 3- Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos.

IMPORTANTE : Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

La reacción de Liebermann-Burchard se emplea también para diferenciar las estructuras esteroidales de los triterpenoides, las primeras producen coloraciones azul o azul verdoso, mientras que para las segundas se observa rojo, rosado o púrpura. Estas coloraciones pueden variar por interferencias producidas por carotenos, xantofilas y esteroides saturados que puedan estar presentes.

Ensayo de catequinas: Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo.

Ensayo de resinas: Para detectar este tipo de compuesto, adicione a 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo.

Ensayo de Fehling: Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo se disuelve en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. El reactivo se prepara de la siguiente forma:

Solución A: Se pesan 35 g de sulfato cúprico hidratado cristalizado y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Solución B: Se pesan 150 g de tartrato de sodio y potasio y 40 g de hidróxido de sodio y se disuelven con agua hasta un volumen total de 1000 mL.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

Ensayo de la espuma: Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos.

El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

Ensayo del cloruro férrico: Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza

con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos.

Ensayo de la ninhidrina: Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminos en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2 % de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5-10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo.

Ensayo de Shinoda: Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.

Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la adición del ácido clorhídrico concentrado.

El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intensos en todos los casos.

Ensayo de Kedde: Permite reconocer en un extracto la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5-10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea, persistente durante 1-2 horas. El reactivo de Kedde se prepara de la siguiente forma:

- Solución 1: Ácido 3.5 dinitrobenzónico al 2 % en metanol.
- Solución 2: Hidróxido de potasio al 5.7 % en agua.

Las soluciones se tienen preparadas de forma independiente y se mezcla igual cantidad en volumen de cada una de ellas justo en el momento de realizar el ensayo. Dicha mezcla es la que se adiciona a la alícuota a evaluar.

Ensayo de antocianidinas: Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 min. Con 1 mL de HCL conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo.

Ensayo de mucílagos: Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0-5 °C y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo.

Ensayo de principios amargos y astringentes: El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal y reconociendo el sabor de cada uno de estos principios, bien diferenciados al paladar.

También pueden realizarse otros ensayos no comprendidos en este esquema de tamizaje, para la detección de otros compuestos. A continuación expondremos algunos de estos ensayos.

Glicósidos cianogénéticos: Coloque unos 5 g de material vegetal en un erlenmeyer de 125 mL y adicione suficiente agua para humedecer la muestra. Prepare un papel de picrato de sodio sumergiendo una tira de papel de filtro en una solución recién preparada de picrato de sodio (5 g de carbonato de sodio + 0.5 g de ácido pícrico y cantidad suficiente de agua para 1000 mL); conserve esta solución en frasco seco.

Aproximadamente 1 mL de cloroformo se añade a la muestra humedecida para resaltar la actividad enzimática. Inserte el papel de picrato de sodio en el recipiente con la muestra, colocándolo de forma tal que no toque las paredes del mismo. Tape el recipiente y caliente a 35 °C por unas 3 horas.

Observe los cambios de coloración del papel, si en 3 h no se produce variación, puede afirmarse la ausencia de los glicósidos cianogénéticos, pero si en 15 min. el papel cambia de amarillo a diferentes tonos rojos, indica la presencia de HCN en cantidades apreciables.

1. **Aceites, hidrocarburos y carotenos:** En un embudo de separación al cual se le coloca un pedacito de algodón en el orificio interior, se adicionan 5 g de droga en polvo y 15 mL de solvente de baja polaridad (éter de petróleo o tetracloruro de carbono). Tape el embudo para evitar la evaporación del

disolvente y déjelo en reposo 6 h como mínimo. Abra la llave del embudo y obtenga de esta forma el extracto.

2. Ensayo de aceite fijo, secante o esencial: Tome 5 mL del extracto y déjelo evaporar sobre un vidrio reloj o placa petri a temperatura ambiente. La aparición de un líquido oleoso después de la evaporación, si deja mancha de grasa sobre el papel de filtro indica presencia de aceite fijo. Si al evaporarse el disolvente aparece una película fina resinosa, indica presencia de aceite secante. Si al evaporarse el disolvente aparece un líquido oleoso aromático que no deja mancha de grasa sobre el papel de filtro indica la presencia de aceite esencial.

3. Ensayo de hidrocarburos: Tome 10 mL del extracto y déjelo evaporar al aire, disuelva el residuo obtenido en acetona calentando suavemente sobre baño de agua si fuera necesario. Deje algunas horas en el refrigerador. La aparición de un precipitado, indica la presencia de hidrocarburos.

4. Ensayo de carotenos: Si el ensayo de hidrocarburos descrito en II, resultara positivo, filtre el precipitado obtenido y disuelva el residuo en 2 mL de cloroformo. Tome la solución clorofómica y adicione reactivo de Carr-Price. La aparición de una coloración verde-azulada indica presencia de carotenos.

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico son tabulados de la siguiente forma:

METABOLITO ENSAYADO	TIPO DE EXTRACTO		
	ETEREO	ALCOHOLICO	ACUOSO OTRO

Aclarando además:

- Nombre de la especie botánica.
- Órgano ensayado.
- Peso del material seco.
- Fecha de la realización del ensayo.
- Análisis y discusión de sus resultados con relación a lo planteado por la literatura.