UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Colorantes
para laboratorios de ciencias básicas

Germán Isauro Garrido Fariña
Miguel Ángel Cornejo Cortés
Verónica María López Pérez

UNAM
CUAUTITLÁN
FES UNAM
Ediciones Cuautitlán

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Colorantes
para laboratorios de ciencias básicas

Autores:

Germán Isauro Garrido Fariña

Miguel Ángel Cornejo Cortés

Verónica María López Pérez

México

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

D.R. UNAM, 2021

La belleza de un color debe estar en la luz

Leonardo Da Vinci

Prefacio

A lo largo de la historia de nuestra civilización, los seres humanos hemos creado una estrecha relación con los colores, como reflejo natural del mundo circundante. Así como el hombre ancestral y el infante que se enfrentan por vez primera a la comprensión de los colores primarios, el tono de sus artefactos más cercanos y los matices de la naturaleza en los cambios de estación, esa relación evoluciona para finalmente ver, observar y entender los tonos y los matices, además de crear mediante la aplicación del color (coloreando y tiñendo).

El planteamiento de la organización de los temas de este libro obedece principalmente a la necesidad que ha surgido dentro de los laboratorios de ciencias biológicas, a lo largo de los años, al hacer visible la materia orgánica, y revelar la delicada estructura celular que permite que la vida exista.

Este libro posee diferentes cualidades para diferentes tipos de necesidades, desde las del técnico laboratorista, quien necesita el número adecuado para solicitar la compra del reactivo colorante; hasta las del estudiante, que quiere explorar su objeto de estudio con las diferentes técnicas posibles. De esta forma, a quien esté interesado se le facilitará acercarse al mundo del color, a través de la historia natural de la civilización. Mediante una breve revisión, se ofrecerán las teorías que explican cómo se ve el color y cómo lo percibimos. Asimismo, poco a poco se adentrará en las vicisitudes técnicas necesarias para conocer el nombre origen, la química de los compuestos, fórmulas, sinónimos, además de las metodologías más empleadas para su aplicación en los tejidos orgánicos.

La histología, como ciencia que explora y explica la morfología microscópica, tiene a la microtecnia como herramienta fundamental para la creación del artefacto y la preparación permanente o “laminilla”, que permite la observación. Esta mancuerna de ciencia y técnica ha producido algunos de los descubrimientos más importantes de las ciencias naturales, específicamente, en biología y medicina.

La histología ha creado una forma de ver la estructura fundamental de los organismos, y los histólogos e histopatólogos han creado un lenguaje semiótico universal que les permite la comunicación entre ellos. Este lenguaje semiótico está conformado por dos cuerpos: el lenguaje oral o escrito, aparentemente críptico, pero puede ser desvelado mediante el otro cuerpo, el lenguaje de las imágenes, de lo

visual, de lo sensual. Estas imágenes provocan un irremediable impacto en la percepción sensorial de cualquier ser humano, y esta percepción aumentada se crea a través de un objeto creado exprofeso, que puede ser entendido dentro de una configuración imaginaria de realidades no visibles, pero con varias posibilidades y con una diversidad de resultados legítimos posibles.

Este texto no es una guía final de los colorantes o de lo que se conoce sobre ellos, solo pretende ser un instrumento, que puede ser mejorado a lo largo del tiempo, y con su uso en los laboratorios que han adquirido, como feliz compromiso, revelar la maravillosa variedad que se esconde en cualquier ser vivo, así como en sus componentes más finos.

Germán Isauro Garrido Fariña
Cuautitlán, México

Índice

1. Historia 15
   1.1. Colores para descubrir la vida 15

2. Índice de colorantes 21

3. Definiciones 23

4. El color 25
   4.1. Primeras aproximaciones al entendimiento del color 25
   4.2. La coloración, la percepción del color 37
   4.3. Absorción y reflexión 39
   4.4. Los modos y modelos de color 40

5. El ojo y la percepción del color 43
   5.1. Teorías de la percepción del color 44
   5.2. Percepción de diferentes gamas dentro del espectro visible 48

6. Biología celular de la percepción de la luz y el color 51
   6.1. Fotoquímica del proceso visual 53
   6.2. Origen y transmisión del impulso nervioso 55

7. Química de los tintes en la coloración biológica 57
   7.1. Proceso de teñido para la industria textil 57
   7.2. Teorías de las reacciones coloreadas 58
   7.3. Clasificación de los colorantes por sus grupos radicales 60

8. Clasificación de los colorantes por su origen y aplicación 61

9. Principales grupos químicos de los colorantes 65

10. Características generales y aplicación de los colorantes más empleados en ciencias biológicas | 69

Conclusión | 131

Agradecimientos | 133

Referencias | 135

Índice de figuras

	Página
Figura 1 Pintura rupestre	16
Figura 2 Mural azteca	16
Figura 3 Microscopio de Leeuwenhoek. Animálculos observados en muestras de agua	17
Figura 4 Celdillas observadas por Robert Hooke en una muestra de corcho. Microscopio de Hooke	18
Figura 5 Diagrama de Pitágoras	26
Figura 6 Escala de colores creada por Da Vinci, pensando en una paleta de colores básicos para un pintor	28
Figura 7 Estilización del círculo cromático de Newton	29
Figura 8 Representación bidimensional de Newton	29
Figura 9 Representación bidimensional de Newton con una propuesta de colores	30
Figura 10 Descomposición de la luz blanca por un prisma, como lo demostró Newton	30

Figura 11
Círculo cromático de Goethe. Con una aproximación a los colores y efectos propuestos por Goethe 31

Figura 12
Esfera de Runge 32

Figura 13
Escala para estudiar la analogía entre los colores y los sonidos propuesta por George Field en 1817 33

Figura 14
Esquema del círculo cromático de Chevreul 34

Figura 15
Círculo cromático de Chevreul, con los colores propuestos por él 34

Figura 16
Escala de colores de Helmholtz 36

Figura 17
Espectro electromagnético y la ubicación del espectro visible de la luz 38

Figura 18
Cualidades del color, en escala cromática tridimensional y sus variaciones en escala bidimensional 40

Figura 19
Círculo cromático de colores primarios en sistema RGB 41

Figura 20
Colores-luz, síntesis aditiva. Colores-pigmento, síntesis sustractiva. Sistema CMYK 42

Figura 21
Anatomía del ojo humano y ubicación de los conos y bastones 44

Figura 22
Círculo cromático con colores primarios, secundarios y terciarios, y sus equivalencias en la fracción visible del espectro electromagnético 45

Figura 23
Círculo cromático original de Munsel. Interpretación moderna con color 46

Figura 24
Estilización del disco de Newton 48

Figura 25
Gama de colores percibidos en distintas cegueras al color 49

Figura 26
Esquema de un bastón 52

Figura 27
Esquema de un cono 53

Figura 28
Proceso de activación de la rodopsina 54

Figura 29
Médula espinal de cerdo coloreada con la técnica
de hematoxilina-eosina 57

Figura 30
Teñido de telas y fibras textiles 58

1. Historia

1.1. Colores para descubrir la vida

En qué mundo viviríamos sin la capacidad para ver o percibir la existencia del color. Es muy difícil imaginar un mundo monocromático, en donde solo los tonos grises formaran a los paisajes de la naturaleza: las montañas otoñales, las bahías tropicales y los sembradíos multicolores de una chinampa. No habría la posibilidad de sentir las delicadas variaciones que existen en las hojas verde-amarillentas, en las mariposas de mil colores o en el arcoíris. Todos vestirían ropas grises; las ciudades serían un ir y venir monótono de repeticiones, con tan solo contrastes de luz; y el arte representado en un lienzo o en un jarrón de talavera no sería más que una colección de luces y sombras (Garrido, 1998a).

Posiblemente el gusto por el color en los seres humanos haya sido inspirado al observar los cambios de la naturaleza con el transcurrir de las estaciones del año. De ahí, que hayan buscado la manera de representar lo que observaban, usando diversos métodos, que han ido desde el empleo de ciertas tierras, hasta el uso de pigmentos obtenidos de plantas y flores, e incluso sangre y cenizas. Lo anterior significa que el uso de colorantes naturales no es nuevo; es posible encontrar diversos ejemplos en distintas culturas de mundo. En algunas pinturas rupestres (figura 1) en Baja California, se encuentran evidencias de imágenes en las que los autores plasmaron su vida cotidiana, así como sus temores y mitos (Garrido, 1998a).

Es probable que en el México prehispánico y Mesoamérica entera (2000 a.n.e.-1525 n.e.), el uso del color haya tenido origen con los primeros grupos nómadas, que más adelante dieron lugar a todo el caudal de expresiones culturales, artísticas (figura 2) y artesanales, que hoy conocemos e identificamos como distintivos de aquella época (Guirola, 2010; Pontón, 1997).

Figura 1. Pintura rupestre

Tomado de https://pixabay.com/es/photos/arte-rupestre-piedra-arte-resumen-375225/

Figura 2. Mural azteca

Tomado de https://pixabay.com/es/vectors/azteca-carácter-diseño-dibujo-1294241/

El desarrollo acelerado y el florecimiento del quehacer artesanal, apoyado principalmente por la generosidad de los territorios en los que se establecieron los antiguos mexicanos, provocaron y estimularon el salto de los colorantes básicos elaborados con tierras, a una gama cada vez más amplia de tintes obtenidos a partir de diversas fuentes, con las que se obtenían coloraciones aplicables en alfarería, telas, ideogramas, rituales, alimentos, e incluso en los cuerpos de reyes, sacerdotes y guerreros (Dupey, 2016).

Con la llegada de los españoles en la conquista, dichas costumbres y artes prevalecieron durante la época colonial y hasta la actualidad, por lo que constituyen

parte del sello distintivo de la cultura mexicana, que es conocida en todo el mundo (Garrido,1998a).

En el siglo XVII, un comerciante holandés e investigador aficionado, Antón Van Leeuwenhoek (1632-1723), empleó una rudimentaria pero eficiente colección de 250 aparatos que él mismo inventó. Estos instrumentos, que podrían catalogarse entre una lupa muy compleja y un microscopio muy simple (figura 3), fueron suficientes para permitirle ser el primero en observar células vivas, así como en hacer observaciones y descripciones de los organismos eucariontes y procariontes, los protozoarios. De esta manera, describió los "corpúsculos" sanguíneos, los espermatozoides, y en 1676, describe los cuerpos bacterianos.

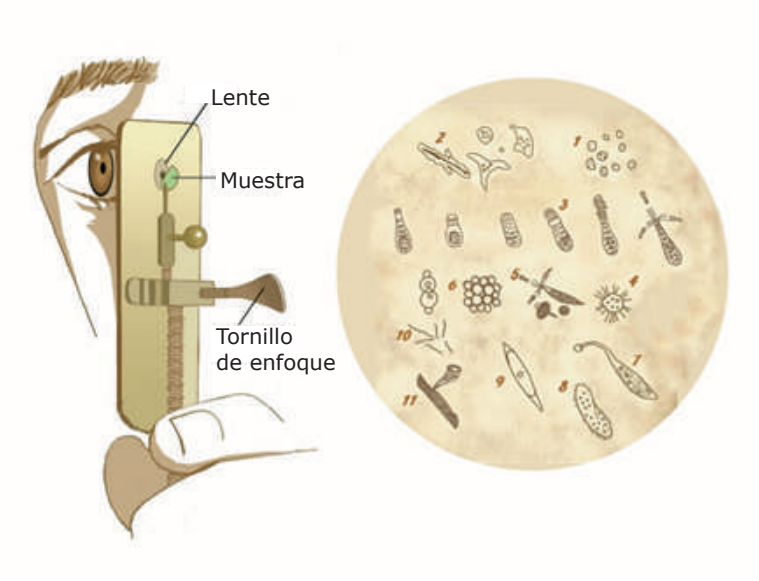


Figura 3. Izquierda: microscopio de Leeuwenhoek. Derecha: animálculos observados en muestras de agua

Ocasionalmente, empleó soluciones de azafrán en vino para dar contraste a los objetos durante su observación. Se le integró a la Real Sociedad Inglesa y se le ha considerado como el padre de la microbiología (Finlay, 2001).

En aquel tiempo, la mayor parte de los países europeos pasaban por un segundo renacimiento cultural, social y principalmente científico, lo que provocó que la mayoría de las ciencias (física, química, biología, matemáticas, medicina, entre otras) fueran impulsadas y surgieran otras, como la economía, la antropología y la sociología, por mencionar algunas (Garrido, 1997).

Más adelante, el científico inglés Robert Hooke (1635-1703), vivió en una época en que se dieron las condiciones necesarias para que la ciencia moderna comenzara su gestación. Aunque fue un tiempo convulso y todavía existían remanentes de la violencia de la Edad Media, permitió desarrollar el pensamiento científico a partir de ideas sencillas.

El trabajo de Hooke se muestra, por ejemplo, en el análisis microscópico de los cristales de hielo que a su vez promovió la investigación de cómo el aire interviene en la combustión. Asimismo, la descripción morfológica del desarrollo de la mosca que realizó, desarrolló ensayos de aerodinámica, acústica y patrones ondulatorios. Además, el inicio de la discusión sobre las estructuras anatómica propició por primera vez el reconocimiento a la unidad morfofuncional de los organismos, la célula (figura 4) (Chapman, 1996).

Figura 4. Arriba: celdillas observadas por Robert Hooke en una muestra de corcho. Abajo: microscopio de Hooke

Uno de los ejemplos del gran auge del siglo XIX (gracias al desarrollo de los conocimientos recopilados durante el siglo anterior) se dio en la química orgánica, ya que se desarrollaron en el laboratorio: las anilinas, los compuestos azoicos, las bencidinas, entre otros compuestos, todos ellos derivados del carbón natural o hulla (Veuthey, 2014).

Posteriormente, con la aceptación del método científico, como una manera de erradicar ciertos mitos y enseñanzas difundidas por medio de creencias religiosas y determinadas prácticas espirituales, se comprobaron, entre otras cosas, la invalidez de la teoría de la generación espontánea, la existencia de seres unicelulares como las bacterias, la teoría celular, la existencia de los gametos masculinos y femeninos, las bases de la genética moderna y la teoría de la evolución, así como la relación entre la geología, paleontología, antropología y las ciencias biológicas, con lo que estas últimas tuvieron un desarrollo sin precedentes (Volcy, 2007).

En particular, la histología tuvo sus orígenes en las observaciones hechas con los primeros microscopios compuestos, mismos que constituyeron una herramienta que permitió grandes avances en biología y medicina. Al inicio, las primeras observaciones se hacían con materiales gruesos y opacos, que, aunque permitían ver ciertas estructuras, no era posible apreciar detalles finos. Por otro lado, los organismos unicelulares solo eran percibidos como estructuras grises u oscuras, de las cuales apenas se podía delimitar su contorno y estructura interna (Veuthey, 2014).

Las técnicas de coloración monocromática en vivo surgieron precisamente a partir de la necesidad de identificar mejor las estructuras observadas. Mediante la aplicación de la tinción, la composición del material biológico tomó el color conferido por el colorante que, como ya se mencionó, era de origen natural, y cuyo uso ya estaba estandarizado en la industria textil (Garrido, 1997a; Garrido, 2005).

Así, el carmín de índigo, la safranina, la cochinilla y la hematoxilina se usaron en los primeros descubrimientos de nuevas formas, características, relaciones y funciones de los tejidos. Algunos investigadores se dedicaron a desarrollar técnicas para contemplar mejor la base morfológica de los seres vivos, así como las células y los tejidos que los conforman.

Hasta que la morfología microscópica dio sus primeros frutos, fue que la histología adquirió el rango de ciencia y, con su avance, la técnica micrográfica aumentó el caudal técnico y los objetivos de aplicación; esto aunado a que los primeros cien-

tíficos especialistas y microscopistas fungían como sus propios técnicos. De esta manera, la histología se incorporó a la medicina con recursos, técnicas y conceptos propios.

Cabe mencionar que, hacia finales del siglo XIX, la química orgánica proporcionó soluciones a una gran cantidad de problemas y cuestionamientos teóricos y prácticos que la histología tuvo que sortear. Con ello, esta ciencia tuvo un gran desarrollo, gracias a la gran variedad de tonalidades obtenidas de manera artificial, que permitieron el mejoramiento de las técnicas de microscopía empleadas hasta entonces.

A principios del siglo XX, se sentaron las bases para la llamada Escuela Americana de Histología. Con la Primera Guerra Mundial, la ciencia histológica se abrió paso, fundamentada en las reacciones químicas conocidas y en el estudio de la morfología microscópica. De esta manera, la mayor parte de las técnicas basadas en reacciones químicas, histoquímicas y citoquímicas fueron puestas a punto por los investigadores americanos, siendo los pioneros en este campo (Garrido, 1997a).

Poco a poco, a finales del siglo XIX y principios del XX, la interacción entre la histología y patología se hizo mucho más sólida, no se puede pensar en una sin la otra, y las dos requieren de la microtecnia. Gracias a esta herramienta se fundamentaron las bases de estas ciencias hasta la actualidad, y se cuenta con la madurez teórica y técnica para poder armar el complejo vital de la estructura viva (Musumeci, 2014).

La microtecnia se ha formado en el crisol de la necesidad, es una práctica artesanal de alta especialización, que se fundamenta en la habilidad del técnico, histólogo o patólogo. La microtecnia, histotecnología o citotecnología, ha acumulado a lo largo de su historia, uno de los acervos teórico-práctico más robustos, aunque no todo esté sustentado en evidencias científicas, por lo que el referente empírico de la experiencia es fundamental. Este conocimiento, que ha sido acumulado a lo largo de pocos años (finales del siglo XIX e inicios del XX), siempre ha permitido que el procesamiento de las muestras para investigación y diagnóstico sea un ente maleable que se adecua a la necesidad única de cada pieza. Pero también permite que, con la investigación histórica, se puedan entender y modificar los dogmas y paradigmas, tanto de sí misma como de las ciencias a las que apoya (Garrido, 2019).

2. Índice de colorantes

Desde que los colorantes se usaron con fines biológicos, se ha tenido que enfrentar y resolver problemas de diversa índole, como pueden ser las diferencias en el resultado obtenido, los colores distintos a lo esperado, así como la presencia de impurezas o reacciones químicas imprevistas (Lillie, 1973).

La primera publicación que se refiere a los colorantes por número y con un cierto orden fue el *Índice Schultz* en Alemania, pero después de la Primera Guerra Mundial, fue superado por el índice de colorantes o *Colour Index*, cuya primera edición fue hecha por la Sociedad de Coloristas y Teñidores de Inglaterra, en 1924. A partir de las siguientes ediciones, se trabajó en colaboración con la Asociación Americana de Químicos Textiles y Coloristas.

A finales del siglo XIX, un estudiante del Dr. Weigert, el Dr. Georg Grübler, inició la ardua tarea de asegurar, de algún modo menos empírico, que la calidad y las características de los colorantes que empleaba fueran lo más constantes posible. Posteriormente, fundó la compañía Dr. Grübler & Co., la cual trabajaría inicialmente con colorantes y reactivos para histología, histoquímica y fisicoquímica; después, exclusivamente con colorantes, por lo que se adjudicó el monopolio mundial de la fabricación y la calidad de los colorantes producidos en Alemania y Europa, desde 1880 hasta 1920.

Durante la Primera Guerra Mundial, la distribución de colorantes provenientes de Europa fue bloqueada de manera progresiva, provocando que las industrias inglesa y americana fueran impulsadas para la producción de reactivos y colorantes. Para 1920, el suministro de colorantes era casi nulo, por el embargo de la postguerra, las reservas se agotaban y los colorantes americanos e ingleses no tenían todavía las cualidades para competir con los alemanes, especialmente, para su uso biológico (Conn, 1943).

Lo anterior provocó que se reunieran los representantes de los grupos más interesados en el tema, apoyados por el Consejo Nacional de Investigación de los Estados Unidos, los cuales fueron: la Asociación Americana de Patólogos y Bacteriólogos, la Sociedad Americana de Zoologistas, la Sociedad Botánica de América, la Sociedad Química Americana, la Corporación Will y la Asociación Americana de

Anatomistas. De esta manera, nace la Comisión para la Estandarización de los Colorantes Biológicos, actualmente. Comisión de Colorantes Biológicos: *The Biological Stain Comission*.

En 1992, inició el trabajo de la Comisión, bajo la dirección del Dr. Harold Joel Conn, en la estación experimental de Geneva, Nueva York, en colaboración con el Departamento de Agricultura y apoyados por el Comité Nacional de Fórmulas, de la Asociación Farmacéutica Americana.

Los métodos para probar las características físicas y químicas de los colorantes, para su posterior certificación, fueron: una absorbancia espectrofotométrica; un ensayo con cloruro de titanio, arseniato de sodio y sulfito de cesio, para conocer la pureza; y finalmente, una prueba biológica.

En 1925, el Dr. Conn, como presidente de la Comisión, publicó la primera edición del libro *Biological Stain*, que es una fuente de referencia y consulta en labores técnicas de laboratorio que emplean colorantes. En ese mismo año, se integró a la publicación de la Comisión, el *Stain Technology Journal*, actualmente llamado *Biotechnic and Histochemistry* (Conn, 1943).

3. Definiciones

El proceso de teñido ocurre cuando el material colorante se vuelve parte integral del material que está siendo coloreado, ya sea una fibra en un textil o para estudiar un tejido, célula o cualquier material contenido en ella (Ramón y Cajal, 1948).

El Índice de Colorantes Internacional (*Colour Index*, C. I.) es una herramienta para microscopistas, profesionales y técnicos que utilizan colorantes naturales y sintéticos, tanto en ciencias biológicas, como en cualquier otra disciplina que requiera de la aplicación de tintes, pigmentos o colorantes (Conn, 1943).

El contenido básico del índice de colorantes es un número asignado a cada uno de los colorantes revisados (CI), el nombre de preferencia, los sinónimos y los usos. El orden está dado por los grupos químicos a los que pertenecen, y al final aparecen los colorantes naturales, pigmentos minerales y reactivos (Conn, 1943).

- **Colorante**. El colorante es una sustancia orgánica o inorgánica coloreada que confiere o cede su color a otras sustancias o tejidos, ya sea con o sin modificaciones en su estructura química, lo que permite distinguir detalles estructurales invisibles o poco visibles al microscopio, dando matices de intensidad variable (SDC, 1971).

- **Pigmento**. Material prácticamente insoluble en el medio o vehículo en el que se incorpora y que no sufre modificaciones en su estructura o composición química; tan solo confiere su color, tal como lo hace una pintura que es aplicada en una pared (SDC, 1971).

- **Tinte**. Compuesto o reactivo, coloreado o incoloro que, durante los procesos de disolución, aplicación o fijación, pierde su estructura cristalina y se modifica la composición química original de su molécula. Por ejemplo: en la histoquímica, se aprovechan las características de una sustancia en particular para producir una reacción química, que modifica la longitud de onda original, lo que da como resultado un compuesto coloreado con longitud de onda distinta a la de los compuestos celulares no coloreados y al reactivo sin reaccionar, obteniendo un color diferente. En ese momento, se le puede considerar un pigmento (SDC, 1971).

- **Tinción**. Este proceso hace patentes las diferencias anatómicas, topográficas y estructurales entre los tejidos y las células que los componen, poniendo de manifiesto las características distintivas propias, como los organelos, los productos de secreción y la acumulación de materiales (Estrada, 1982).

- **Impregnación**. Los reactivos impregnadores (principalmente metales, el más usado es la plata en su forma de nitrato de plata) se depositan selectivamente en ciertas estructuras del tejido, para después sufrir una alteración química. En la coloración, se emplea para resaltar, por medio de la impregnación metálica específica o general, uno o más de los componentes argentafines característicos de un tejido o célula en especial, con la ventaja de la selectividad de estos métodos en algunas estructuras, sustancias y organismos (Garrido, 1998; Garrido, 2002).

4. El color

Los fenómenos relacionados con la luz y el color han sido abordados y explicados de distintas formas, a lo largo del pensamiento de la humanidad. La óptica es una de las ciencias más antiguas, y cuenta con una gran capacidad para estimular la imaginación. La óptica siempre ha tratado de explicar una gran cantidad de fenómenos que se observan en la naturaleza, con diferentes métodos. El resultado de estos trabajos de exploración e investigación también produjo diferentes utensilios, que, a lo largo de la historia, se convirtieron en herramientas icónicas, como la gran variedad de cristales de aumento y prismas, que modifican el paso de la luz de diversas maneras.

El estudio de la luz y el color ha sido abordado desde diferentes puntos de vista por una gran cantidad de personajes.

Una de las primeras aproximaciones fue la filosófica, que solo pretendía entender la diferencia entre lo material y lo intangible. También, la física ha tratado de explicar los fenómenos que nos permiten ver, además de usar la luz y el color. Por otro lado, el aspecto psicológico explica el impacto sobre el comportamiento o las sensaciones de los individuos. Asimismo, desde tiempo inmemorial, existe el punto de vista artístico, en el que los humanos entienden el color y lo incorporan a su creación. Finalmente, el aspecto científico del área biológica, que requiere entender la generación y la percepción del color, así como su aplicación en células, órganos y tejidos, mediante la microtecnia o histotecnología (Geldard, 1968; McPhedran, 2015).

4.1. Primeras aproximaciones al entendimiento del color

Filón de Alejandría fue un filósofo griego (15 a.n.e–45 n.e.), que observó por primera vez la variedad y las modificaciones debidas a la luz del sol, sobre los colores de la naturaleza y los objetos que lo rodeaban.

Pero, es Pitágoras de Samos (~569–475 a.n.e. quien ideó (tomando en cuenta la percepción que se tiene a lo largo del día) un sistema en el que los colores podían estar dispuestos de forma lineal (figura 5), en un diagrama que relaciona de forma integral los colores, los 7 tonos musicales, la posición entre los planetas, la relación con ciertas estrellas en la bóveda celeste y la ubicación central de la Tierra.

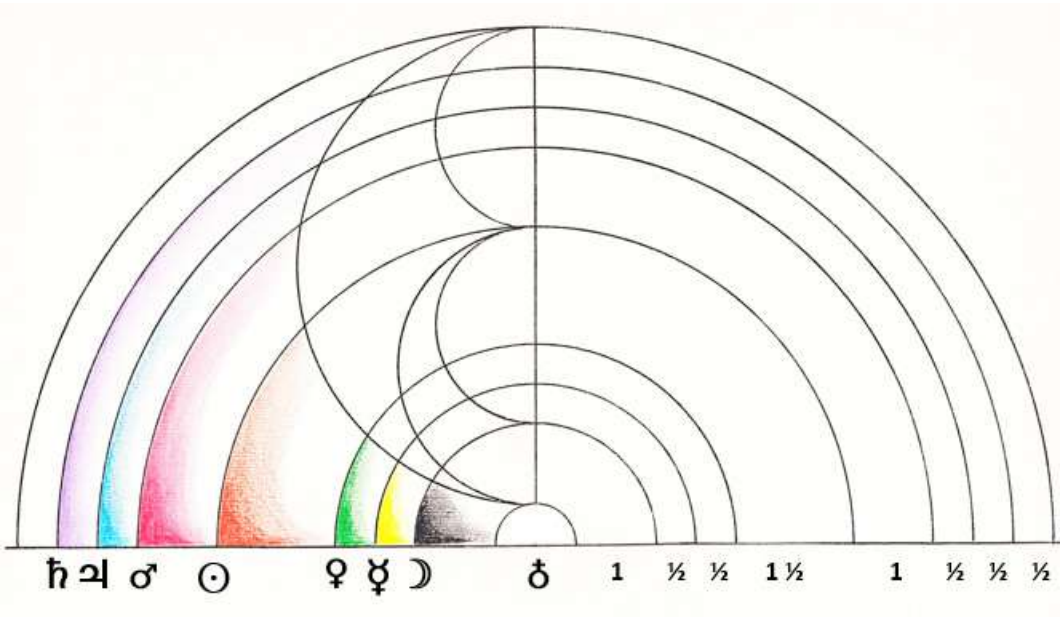


Figura 5. Diagrama de Pitágoras

Aristóteles de Estagira (322-284 a.n.e) estudió las mezclas de colores, a partir de las ideas de Empédocles de Agrigento (495–435 a.n.e) y Anaxímenes de Mileto (~590–528 a.n.e). Aristóteles propuso que los colores son modificaciones de la luz pura, equiparó tono y brillantez, y colocó a todos los colores entre el blanco y el negro. Basándose en estas tres ideas, construyó una línea base que contiene a los 7 colores, colocando en los extremos al blanco y negro. A cada color, otorgó un elemento: tierra, cielo, agua, fuego y algunos matices. También propuso que la luz es una sustancia que se modifica en los colores que la forman, de acuerdo con el medio por el que se difunde (Westfall, 1962).

> "Por el momento quede claro, al menos, que lo que se ve a la luz es el color, y de ahí que este no se vea si no hay luz: la esencia del color, en efecto, consiste en ser el agente que pone en movimiento a lo transparente en acto y la entelequia de lo transparente es, a su vez, la luz" (Aristóteles, trad. 1978, p. 192-193).

Leon Battista Alberti (1404-1472), arquitecto, artista y científico, publicó en 1435 *Della Pittura*, el primer tratado de pintura y manual para artistas, en donde creó el primer sistema organizado para la mezcla de los colores. En términos generales, lo explicó de la siguiente forma:

> "Por medio de la mezcla de colores se han creado muchísimos más, pero solamente existen cuatro colores verdaderos, así como son cuatro los elementos, a partir de los cuales se pueden crear muchas otras clases de colores. El rojo es el color del fuego, el azul del aire, el verde el del agua, y de la tierra el gris y el cenizo" (Alberti, trad. 1998, p. 56).

Por otro lado, creó la idea de que la luz le confiere existencia al color y lo modifica, de acuerdo con sus características.

> "La importancia de esto se puede demostrar con facilidad pues cuando no hay luz no hay color y cuando vuelve la luz, los colores vuelven" (Alberti, trad. 1998, p. 55).

Leonardo Da Vinci (1452-1519) estudió al color como la principal herramienta del pintor y de, entre sus escritos, su alumno Francesco Melzi hizo una recopilación para editar de forma póstuma, en 1550, *El tratado de la pintura*, publicado hasta 1651, en París. Da Vinci ordenó en una escala de 6 colores, al blanco como color principal y al negro le confirió la oscuridad.

> "…. diremos que el blanco es el primero de los colores simples, el amarillo el segundo, el verde el tercero, el azul el cuarto, el rojo el quinto, y el negro el sexto. El blanco lo ponemos en vez de la luz, sin la cual no puede verse ningún color: el amarillo para la tierra: el verde para el agua: el azul para el aire: el rojo para el fuego y el negro para las tinieblas que están sobre el elemento del fuego" (Da Vinci, 1827, p. 74).

Da Vinci, propuso la idea de los colores primarios y secundarios (figura 6). Aunque no pudo explicar la generación del verde como color resultante de dos primarios, y, a su vez, como color componente para los colores terciarios, pero sí exploró la relación y la influencia que guardan entre sí los colores, al reunirse y estar juntos en el lienzo.

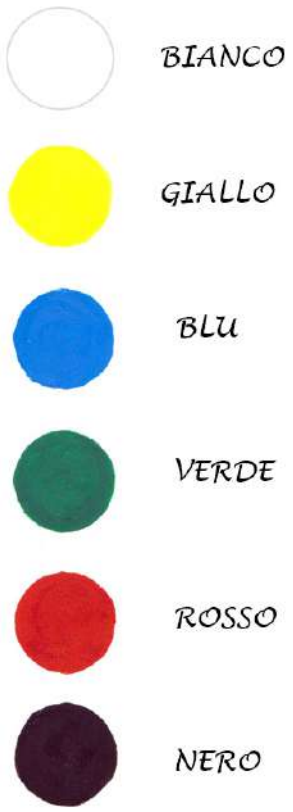


Figura 6. Escala de colores creada por Da Vinci, pensando en una paleta de colores básicos para un pintor (Modificado de: Da Vinci, 1827, p. 57-58)

René Descartes (1596–1650) también tomó como base a la escuela aristotélica y provocó que la búsqueda de la explicación de la generación del color y la luz se basara en principios mecanicistas, lo cual dominó los trabajos de óptica, hasta que el físico inglés Isaac Newton (1643–1727) logró esclarecerlos (Westfall, 1962).

Newton completó el tránsito de una hacia dos dimensiones en la representación gráfica de los colores, al proponer su agregación de colores en un círculo (figura 7), el cual contiene 7 colores: rojo (p), anaranjado (q), amarillo (r), verde (s), cian (t), ultramarino (v) y violeta (x).

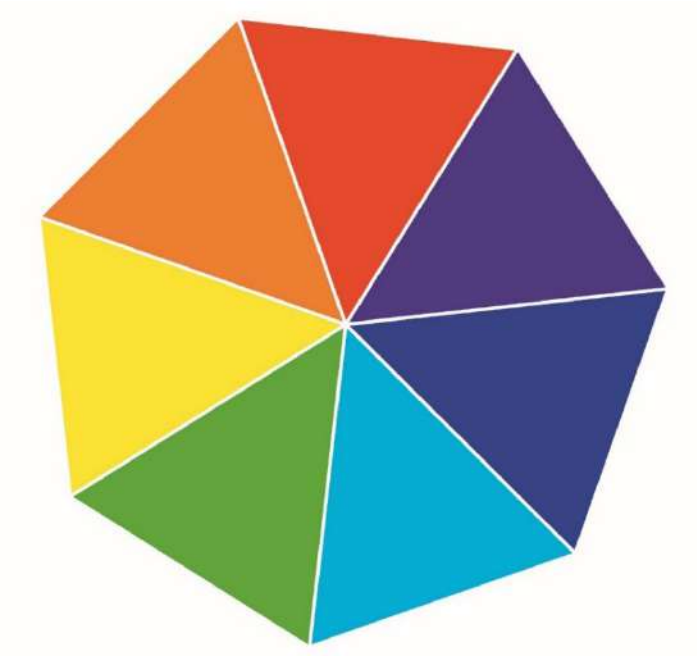


Figura 7. Estilización del círculo cromático de Newton

Newton también propuso cómo se relacionan los colores en que se descompone la luz en un círculo bidimensional (figuras 8 y 9).

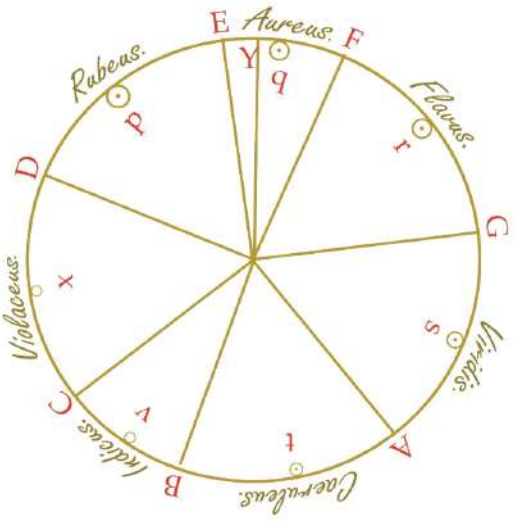


Figura 8. Representación bidimensional de Newton
(Modificado de: Smith & Walford, 1704)

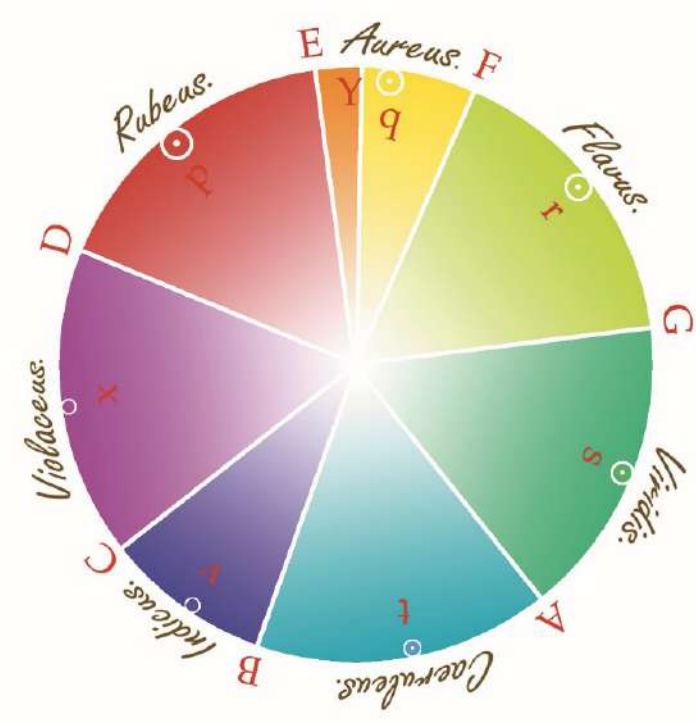


Figura 9. Representación bidimensional de Newton con una propuesta de colores (Modificado de: Smith & Walford, 1704)

Newton planteó en su teoría de la luz y el color, publicada en 1672, que los colores son componentes de la luz blanca y no modificaciones, como se había pensado hasta entonces (figura 10).

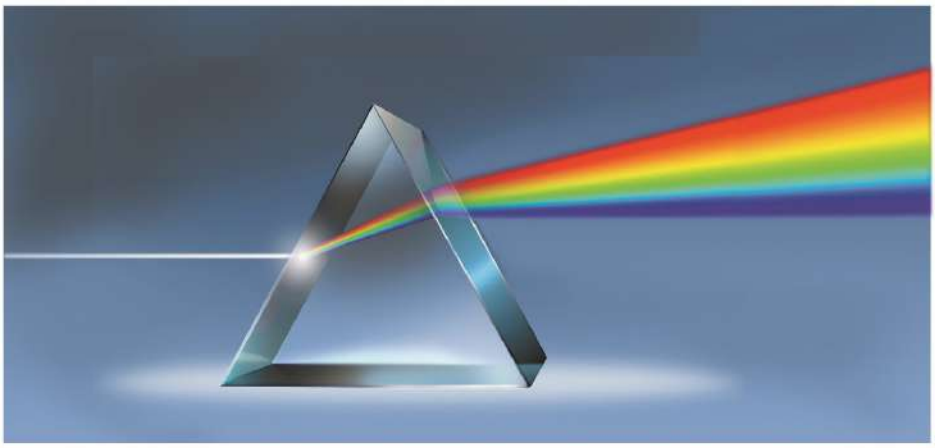


Figura 10. Descomposición de la luz blanca por un prisma, como lo demostró Newton

En lo que al blanco y negro se refiere, los eliminó del círculo de color, ya que el blanco es la reunión de los demás colores y el negro es la ausencia de luz, y por lo tanto, de color. Retomó la idea de Pitágoras, posteriormente estudiada por Field, en la que equipara la escala cromática con la escala musical y prevé las ideas de los corpúsculos o cuantas que componen a la luz.

Johann Wolfgang von Goethe (1749–1832) estudió la refracción de la luz con no mucho éxito, pero su interés por los colores, le permitió crear una escala cromática innovadora (figura 11), la creó con forma circular, y ahí acomodó a los colores por pares, en una relación simétrica. También le dio a los colores la característica de complementariedad, por primera vez; esto es que los colores armonizan con los adyacentes y se complementan con los que se sitúan al otro lado del círculo. En su sistema, Goethe le asignó a los colores una naturaleza que les permite la capacidad de relacionarse con un sentimiento estético o en un orden moral-sensual.

En la esfera de color, propone que, al estar todos los colores en equilibrio, en una coloración armoniosa, pueden producir un efecto radiante y de placer. En la primera mitad, el amarillo, el amarillo-rojo y el púrpura producen el efecto de poder cuando predominan; y la otra mitad, con azul, verde y purpura, producen un efecto amable. De esta forma, inició la escuela y las ideas del uso de los colores dentro del comportamiento humano.

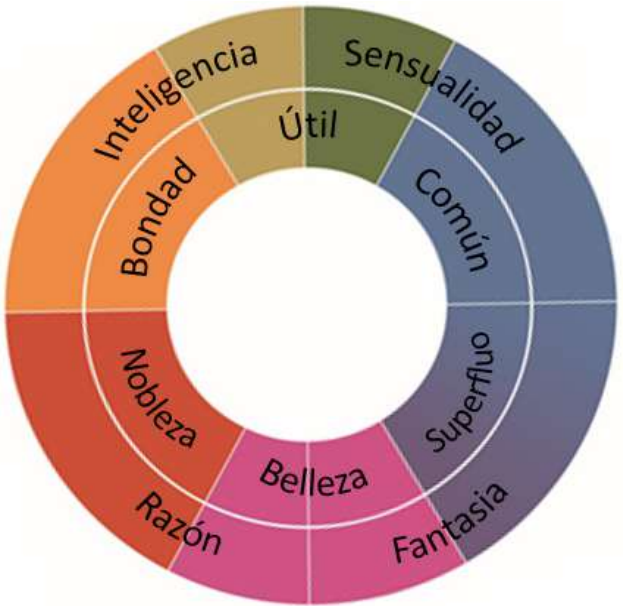


Figura 11. Círculo cromático de Goethe. Con una aproximación a los colores y efectos propuestos por Goethe (Modificado de: Goethe, 1810, p. 25)

El 1810, el pintor alemán Philipp Otto Runge (1777–1810) presentó un diseño en el que los colores son agregados en una esfera (figura 12), aunque su trabajo fue presentado al mismo tiempo que el de Goethe, la propuesta de Runge proporcionó escalas cromáticas en las proporciones correctas entre los colores, lo que permitió construir las tablas de afinidad.

Figura 12. Esfera de Runge (Modificado de: Runge, 1810, p. 16)

El químico George Field (1877-1925) estudió paralelamente la teoría del color y la relación de la armonía, tanto de la música como del color, y planteó la temperatura de los colores. Para esto, colocó dentro de su círculo cromático, y en posición opuesta, a los colores calientes y fríos, proponiendo así, la degradación del color en tonos relacionados con los sonidos en las escalas de Do y Fa (figura 13).

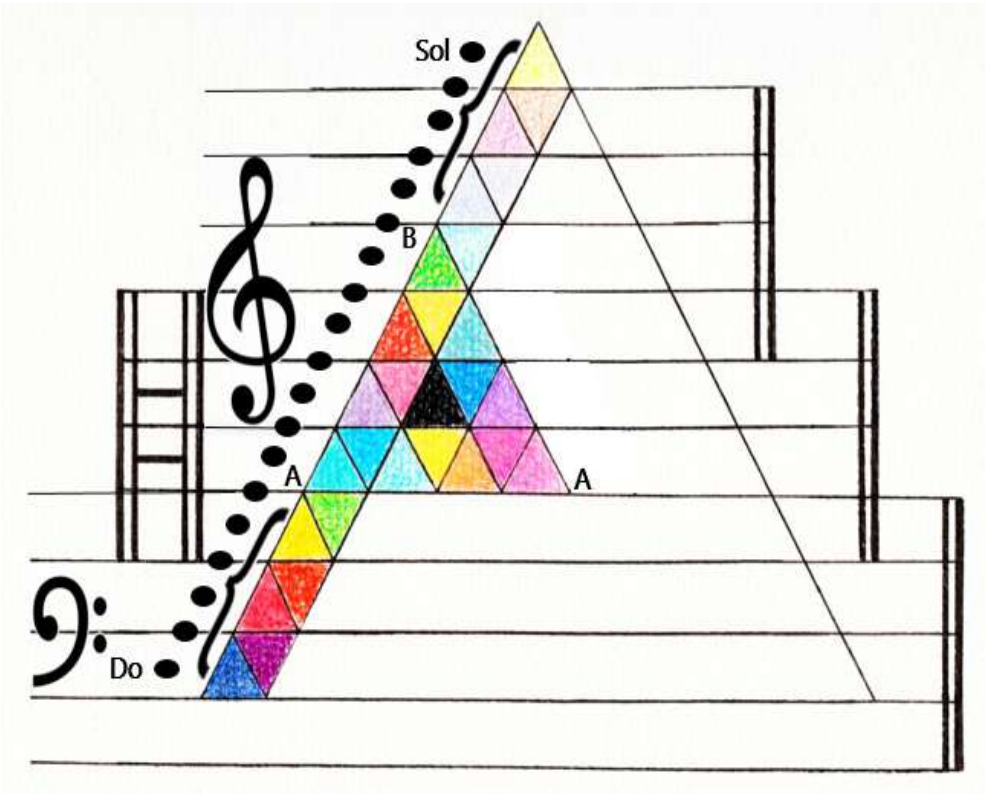


Figura 13. Escala para estudiar la analogía entre los colores y los sonidos propuesta por George Field en 1817 (Tomado de: Field, 1817, p. 33)

Michel Eugène Chevreul (1786–1889) fue un químico francés que, en 1839, publico *De la loi du contrast simultané des couleurs*, en donde estableció por primera vez una explicación de la armonía del color y la relación que guarda el cerebro con la percepción del color, mediante la ley del contraste simultaneo (figuras 14 y 15).

> "Si observamos al mismo tiempo dos áreas desigualmente oscuras del mismo color, o dos áreas igualmente oscuras de diferentes colores que están yuxtapuestas, es decir, contiguas por uno de sus bordes, el ojo verá, si las zonas no son demasiado amplias, las modificaciones que se relacionarán en el primer caso con la intensidad del color y en el segundo con la composición óptica de los dos colores respectivos yuxtapuestos" (Chevreul, 1839, p. 7).

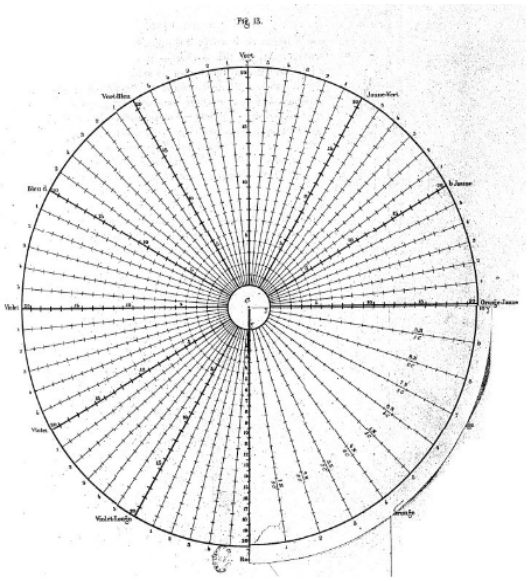


Figura 14. Esquema del círculo cromático de Chevreul (Modificado de: Chevreul, 1839)

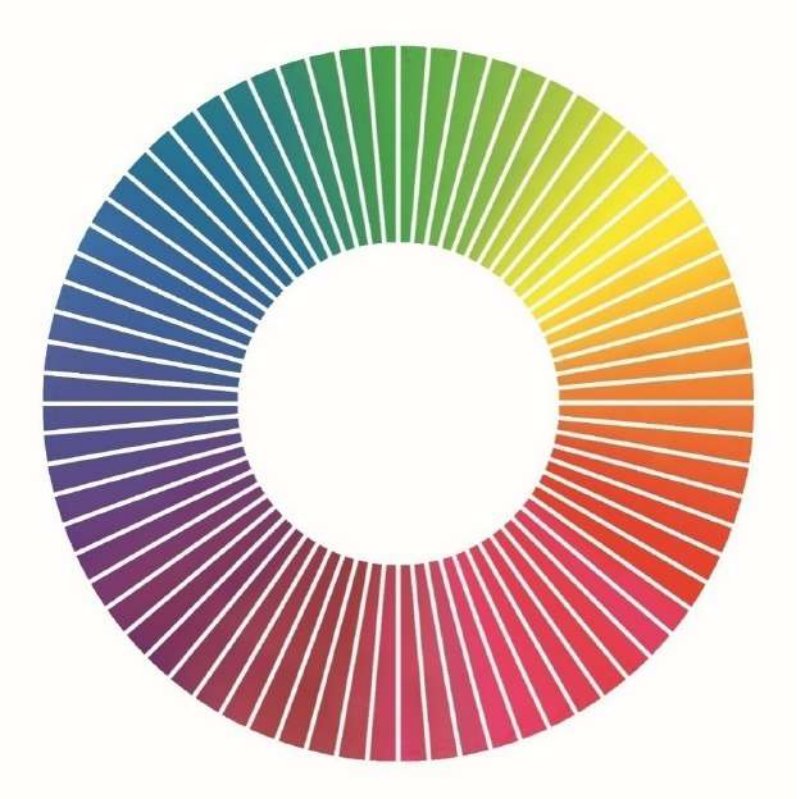


Figura 15. Círculo cromático de Chevreul, con los colores propuestos por él (Modificado de: Chevreul, 1839)

James Clerk Maxwell (1831–1879) fue un físico–matemático de origen escocés, que aunque explicó con al menos cuatro fórmulas generales la teoría del movimiento de los gases, la distribución maxwelliana, la propagación de la luz y la demostración de las ondas electromagnéticas, también esclareció (en su trabajo *Experiments on colour, as perceived by the eye*, presentado en 1855) cómo con sólo tres colores del espectro visible: bermellón, azul ultramarino y verde esmeralda, se pueden generar las sensaciones de color en el ojo. Además, propuso un sistema matemático para medir el color de forma cuantitativa; y estableció que, cuando se trabaja con la descomposición de la luz y los tintes, el estímulo provocado puede ser aditivo o sustractivo.

> "Thus, in shade, hue, and tint, we have another mode of reducing the elements of colour to three. Hence it appears that the nature of a colour may be considered as dependent on three things, as, for instance, redness, blueness, and greenness" (Maxwell, 1855, p. 279).

> "Por lo tanto, en el tono, tono y tinte, tenemos otro modo de reducir los elementos de color a tres. Por lo tanto, parece que la naturaleza de un color puede considerarse como dependiente de tres cosas, como, por ejemplo, rojizo, azuloso y verde"

El físico y médico alemán Hermann von Helmholtz (1821–1894) fue autor, junto con el científico inglés Thomas Young (1773–1829), de la teoría de la visión tricrómica, publicada en 1856, dentro de su manual de óptica fisiológica. En dicha obra, explica la percepción tricrómica del color (figura 16), por medio de tres diferentes células, cada una sensible a un diferente tipo de longitud de onda del espectro de luz visible. Este hecho fue luego demostrado en 1956 por Gunnar Svaetichin (1915–1981). Helmholtz propuso las tres variables que aún son empleadas para caracterizar al color: tono, saturación y brillantez (en inglés hue, saturation y brightness respectivamente), y propone su escala de color, en la que integra las tres variables: tono, saturación y brillantez a los tres colores, verde, rojo y violeta.

> "Wir haben gesehen, dass alle verschiedenartigkeit des lichteindrucks als die function dreier unabhängig veränderlicher grössen betrachtet werden kann, und haben bisher als diese drei veränderlichen 1) die lichtstärke, 2) den farbenton und 3) die sättigung gewählt; oder 1) die quantität weiss, 2) die quantität 3) die wellenlänge einer spectralfarbe" (Helmholtz, 1867, p. 289).

"Hemos visto que toda la diversidad de impresiones de luz se puede considerar como la función de tres cantidades variables independientemente, y hasta ahora hemos elegido como estas tres variables 1) la intensidad luminosa, 2) el tono de color y 3) la saturación; o 1) la cantidad de blanco, 2) la cantidad y 3) la longitud de onda de un color espectral".

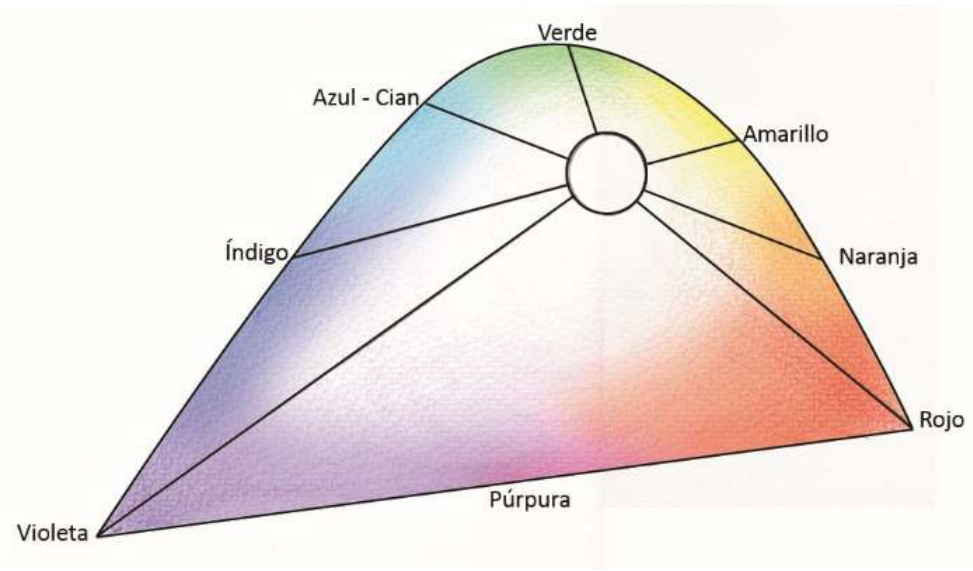


Figura 16. Escala de colores de Helmholtz. (Modificado de: Helmholtz, 1867, p. 289)

En 1905, Albert Henry Münsell (1858–1918), artista y profesor de arte, propuso y desarrolló los principios básicos para sistematizar matemáticamente el estudio y el uso del color. En su sistema, Münsell definió a los colores: rojo, amarillo, verde, azul y púrpura como matices principales y los ubicó en intervalos equidistantes, conformando un círculo cromático con 100 divisiones de tono. De esta forma, agregó para cada uno, cinco matices intermedios: amarillo-rojo, verde-amarillo, azul-verde, púrpura-azul y rojo-púrpura.

El sistema de Münsell permite dar la ubicación exacta de un color dentro del sistema de percepción equidistante o árbol del color. En cada nivel, las modificaciones de tono son graduales y organizadas en el espacio de forma precisa, delimitadas por sus atributos de tono, luminosidad y saturación, denominados por sus siglas en inglés: H, *hue* (tono); V, *lightness value* (valor de la luminosidad) y C, *chroma* (saturación).

"The amount of light reflected from pigments, is the second dimension or quality of color, the other two being hue and chroma. A scale of neutral or gray values tends from the extreme of whiteness to the extreme of blackness." (Münsell, 1906).

"La cantidad de luz reflejada por los pigmentos, es la segunda dimensión o característica del color, las otras dos tono y croma. Una escala neutral o valores de gris tiende desde el extremo de blancura al extremo de negrura."

4.2. La coloración, la percepción del color

La teoría del color trata de explicar una propiedad física de los objetos: el color, que requiere, por condición *sine qua non*, de la presencia de un observador para existir; es decir, es la manera en que el cerebro puede reconocer a las diversas cualidades de la luz, ya sea reflejada, o producida por un objeto, y percibida por la retina. Por lo que, el color conferido a un objeto es un estímulo de luz que el ojo recibe.

Físicamente, el color se ha descrito como parte del espectro electromagnético (figura 17), que se encuentra entre 400 y 800 nanómetros (nm) de longitud de onda. La percepción del color es producida por un estímulo que depende de la distribución energética, en diferentes longitudes de onda dentro del espectro visible, que inciden en el ojo en forma de fotones o cuantos de energía.

Lo que conocemos como luz, es reflejada en su totalidad o absorbida de manera selectiva, es decir, cuando "vemos" el color de algún objeto, por ejemplo, azul, rojo o amarillo, deberíamos decir que la luz reflejada por el objeto tiene una longitud de onda determinada para los colores azul, rojo o amarillo, respectivamente. Los colorantes entonces, tienen la propiedad de absorber algunas longitudes de onda y reflejar otras.

El modelo (aparentemente contradictorio) propuesto para explicar lo que es la luz en el espectro de radiación electromagnética es la teoría cuántica propuesta por Planck y Einstein, entre otros científicos. De acuerdo con ella, la luz se puede estudiar como un flujo de partículas discretas de energía o fotones, que viajan a la velocidad y con el comportamiento de una onda: a 3×10^{10} cm/s.

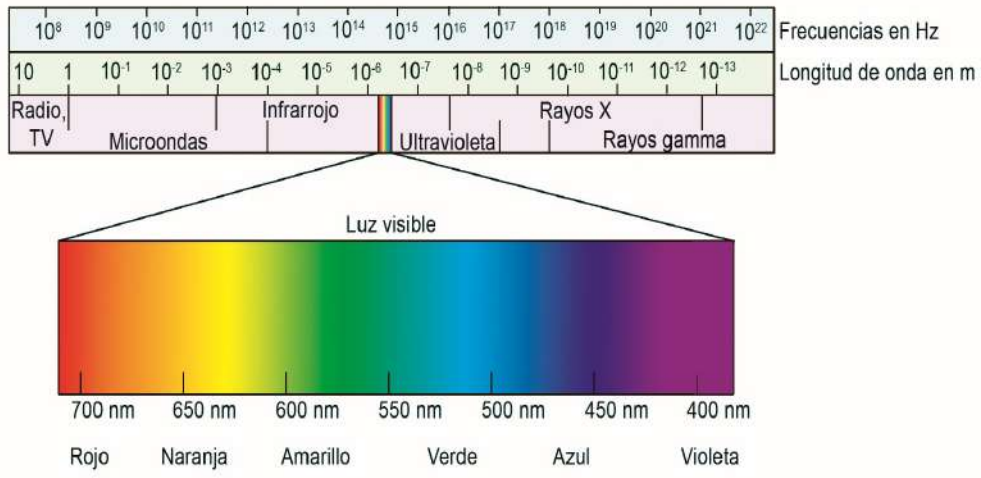


Figura 17. Espectro electromagnético y la ubicación del espectro visible de la luz. La escala superior representa las frecuencias en Hz y la inferior la longitud de onda en nm

En la teoría del comportamiento ondulatorio, la luz se caracteriza por su longitud de onda (distancia requerida para que se produzca una onda completa) o por su frecuencia (número de oscilaciones por unidad de tiempo). En la teoría de partículas, la radiación monocromática del blanco (negro y gris) se caracteriza por la energía de cada fotón.

Aparentemente, cuando se discuten los procesos energéticos involucrados en la absorción de la luz, la teoría de partículas es la más aceptada; mientras que, para el origen y efectos de la difracción del color, se adapta mejor la teoría ondulatoria. Se pueden separar las dos teorías y dicho proceso es válido, ya que el empleo del modelo más adecuado depende de la naturaleza del fenómeno en estudio.

Existen diferentes maneras de concebir un mismo concepto. Da Vinci pensaba que las mezclas de color podrían ser infinitas; en tanto, Newton propuso que las ondas del espectro visible se pueden extender al infinito desde sus dos extremos. En cualquiera de los dos casos, son representaciones de una misma idea, que se origina en las sensaciones físicas y emocionales que produce el color.

El color es la interpretación del cerebro ante cierta combinación de ondas electromagnéticas, que están en un rango definido dentro del espectro visible de la luz. La materia en sí misma es incolora, los objetos aparentan tener color, de acuerdo con sus características físicas, el medio ambiente en que se encuentran, el estado

fisiológico del observador y la luz que los ilumina. Así, el cerebro interpreta la razón entre la absorción y el reflejo de las longitudes de onda complementarias al color que tienen los objetos, y esta interpretación puede promover un estado de ánimo.

La luz blanca no es un color, sino la combinación de todos los colores que forman al espectro visible. Por otro lado, el "color" negro es la ausencia de luz; los objetos negros absorben todas las frecuencias de luz visible, aunque por lo poco que reflejan de la luz podemos verlos.

4.3. Absorción y reflexión

Ahora, tomaremos como ejemplo la observación de una preparación permanente para histología. Cuando se ilumina el núcleo de una célula teñido de azul con un haz de luz blanca, este núcleo ha absorbido parte del espectro azul, reflejando los tonos verdes y rojos. Dicho rayo de luz modificado excita a las células de la retina del ojo, que transmiten al cerebro la sensación de cuánto azul ha sido absorbido por el objeto; de esta forma sustractiva, el observador le puede atribuir el color azul y sus variantes al objeto iluminado.

Entonces, la percepción del color dependerá de la estructura molecular de un objeto, el medio en el que está inmerso y la luz que incide sobre él. La interpretación del color depende de la fisiología del observador, la luz que se refleja del objeto y las cualidades del color: tono (nombre específico), valor (grado de brillantez o luminosidad) y saturación (grado de pureza) (figura 18).

- **Tono**. Es la atribución de un color que permite que pueda ser clasificado e inicialmente denominado como rojo, azul, verde etc. También se puede hacer referencia a esta característica con alguno de sus sinónimos en diferentes métodos de clasificación: matiz, tinte, croma o, por su nombre en inglés, *hue*. El tono ayuda a ubicar los diferentes matices de un color primario, secundario o terciario, en cualquier sistema de clasificación del color. Existe un orden natural de los matices: rojo, amarillo, verde, azul y púrpura, los cuales se pueden mezclar con los colores adyacentes para obtener una variación continua de un color al otro.

- **Saturación o intensidad**. Es la pureza cromática. En la teoría sustractiva de la luz, es la cantidad de claridad u oscuridad en un color o matiz, dependiendo de la cantidad y tipo de luz incidente. En la teoría aditiva, es la cantidad o mezcla de blanco en la mezcla del color: un color débil es de

baja intensidad, mientras que los de intensidad alta son colores fuertes o saturados.

- **Luminosidad**. Es la claridad de un color o matiz, por lo tanto, es la cantidad relativa de luz reflejada por un cuerpo. En condiciones de iluminación equiparables, produce un color más luminoso; es decir, que entre mayor cantidad de luz refleja tiende al blanco, mientras que, uno menos luminoso es aquel que tiende al negro.

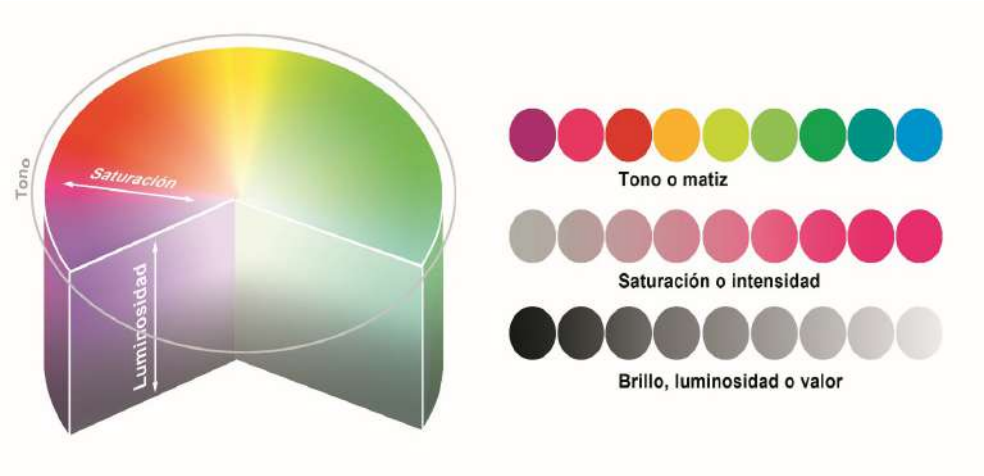


Figura 18. Cualidades del color, en escala cromática tridimensional y sus variaciones en escala bidimensional

4.4. Los modos y modelos de color

Todos los sistemas para organizar el color se han creado de acuerdo con la percepción del ojo humano y han evolucionado a partir de su organización, dentro de diferentes figuras geométricas y dentro de una organización tridimensional, delimitada por la saturación y luminosidad del color. De este modo, todos los sistemas son discontinuos, lo que les confiere una gran ductilidad.

- **RYB**. El círculo cromático clásico de pigmentos naturales, está formado por rojo, amarillo y azul, que aparecen en la coloración tradicional, o RYB, por sus siglas en inglés (*red*, *yellow*, *blue*). Este esquema se propuso por vez primera en el siglo XVI, y aunque ha sido reemplazado por el CMYK, sigue siendo muy útil para la enseñanza en las escuelas de arte.

- **RGB. Color luz. Síntesis aditiva**. Este es el modelo aditivo a partir de los colores primarios rojo (*red*), verde (*green*) y azul (*blue*) (figura 19). Es el

que observamos en las pantallas de la mayoría de dispositivos, en donde los colores luz forman la imagen. En este sistema, el blanco es la suma de todos los colores y el negro la ausencia total de color. Para generar un color se debe definir, dentro del rango asignado un valor de intensidad a cada píxel entre 0 (negro) y 255. La cantidad de la mezcla de cada uno de los colores primarios con seis dígitos (RR GG BB) provocará el tono de color. Para obtener gris, los valores RR GG BB son idénticos y si el valor es de 255, el color obtenido será blanco puro, para negro puro todos los componentes tendrán un valor 0.

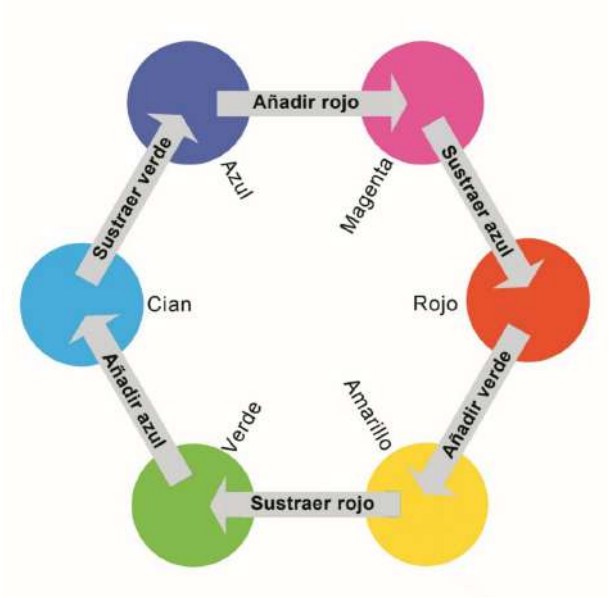


Figura 19. Círculo cromático de colores primarios en sistema RGB

- **CMYK. Color pigmento. Síntesis sustractiva** (figura 20). En los orígenes de las teorías de color, este era considerado como una cualidad del objeto. Con el tiempo y con los avances en los estudios de la luz, se llegó a la conclusión de que los colores pigmento se generan por la luz reflejada por ciertos compuestos coloreados o pigmentos aplicados a las superficies como en el sistema RGB. En el modelo CMYK, el color es producido por la combinación de cian, magenta, amarillo y negro, lo que generó el acrónimo de sus siglas *cyan*, *magenta*, *yellow* y *black*. En este sistema, cada pixel tiene un valor del porcentaje para el color final. En las imágenes CMYK, el blanco puro se genera, si los cuatro componentes tienen valores del 0 %.

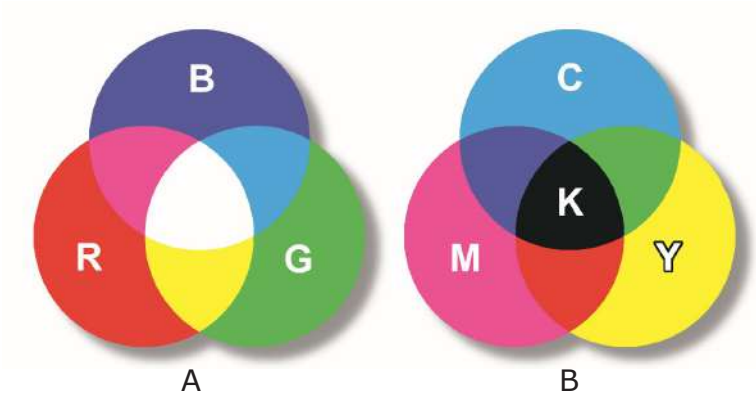


Figura 20. A. Colores-luz, síntesis aditiva. B. Colores-pigmento, síntesis sustractiva. Sistema CMYK

5. El ojo y la percepción del color

Los ojos captan algunas de las sensaciones producidas por el medioambiente, en forma de color; estas sensaciones se transmiten al cerebro, que codifica y hace que perciba los colores mediante un proceso, si bien, muy estudiado, aún no es del todo claro.

Probablemente, la teoría más aceptada es la de Thomas Young (1773-1829), desarrollada posteriormente por Hermann von Helmholtz (1821-1894). Dicha teoría explica la percepción de color por medio de la duplicación en el ojo, de la mezcla aditiva de un mínimo de los tres colores primarios, o por la duplicación de una mezcla sustractiva de dos o tres colores.

La conversión de energía fotónica a eléctrica nerviosa toma lugar en la retina del ojo (figura 21), la cual tapiza el interior del globo ocular y está formada por varios estratos celulares, entre ellos, las fibras ópticas que se conectan con el nervio óptico y el cerebro. Pero los elementos más importantes para la percepción del color se encuentran sumergidos en el último estrato celular, compuesto por células con dos morfologías distintas. El primer grupo asemeja un bastón y el otro a un cono truncado, de allí que tomaron su nombre cuando fueron observarlos por medio del microscopio electrónico de transmisión.

Los bastones son sensibles bajo condiciones de baja iluminación y proveen la visión scoptica, esto es, que permite la percepción de los tonos de negro blanco y gris. Los conos son los receptores para el color, su función se da bajo condiciones de gran intensidad de luz, esta es la visión fotópica.

Estas células especializadas secretan fluidos coloreados, unos de los más importantes es la rodopsina, que es un conjugado proteico en cuyo grupo prostético se encuentra un derivado de la vitamina A. Este fluido se decolora a un amarillo pálido de su tono original rodeado al contacto de la luz, transformándose en vitamina A aldehído; posteriormente, en la oscuridad o sin estímulo, retorna el color rosa. Después de cierto tiempo en la oscuridad, la adaptación o recuperación de pigmento es activo, lo que depende de las cantidades disponibles de vitamina A en el organismo.

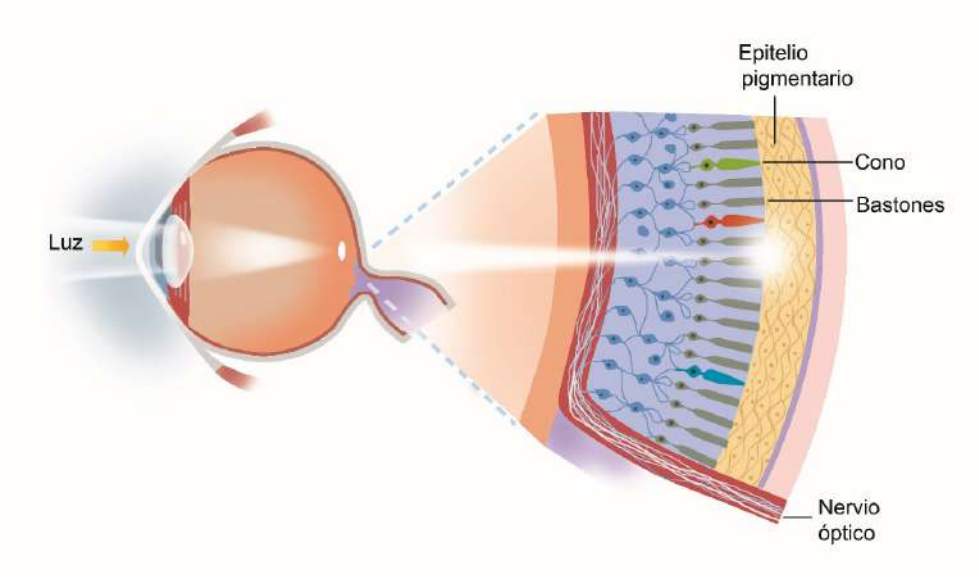


Figura 21. Anatomía del ojo humano, y ubicación de los conos y bastones

5.1. Teorías de la percepción del color

La teoría de recepción tricrómica del color en el ojo se basa en que cualquier color, a excepción del blanco, se puede producir con diferentes cantidades de los colores primarios o primitivos: azul, púrpura y amarillo.

Expliquemos primero la percepción del color bajo dos teorías, que, aunque en apariencia parecen contrarias, en la práctica se complementan con muy buenos resultados. La primera es la teoría sustractiva del color: un color es obtenido cuando los tres receptores para los colores primarios son estimulados por cantidades apropiadas, para que las tres respuestas sean registradas en el cerebro, sin que domine algún tono en particular. La segunda es la teoría aditiva, en la que se agregan los colores complementarios en las proporciones adecuadas para la percepción de un haz de luz blanco.

La percepción de los colores es un poco más compleja, pero nos ayudará a comprender las teorías de la formación del color. Para entender mejor la mezcla de colores en las teorías del color, primero explicaremos la teoría del color, principalmente usada en las artes gráficas para pintar y colorear o teñir, en cualquier arte relacionado con la mezcla de colores.

En esta teoría (figura 22), se utilizan los tres colores primarios azul, magenta y amarillo para obtener casi cualquier color, aproximadamente 80 diferentes tonos.

Primero, se mezclan los colores primarios por parejas, con esto obtendremos los colores secundarios: verde, rojo y violeta; después, los colores primarios se combinan con los nuevos colores, obteniendo los colores terciarios. Si se continúan haciendo las mezclas, se obtienen los colores cuaternarios y así sucesivamente, hasta tener una graduación de colores puros y colores compuestos, desde el blanco hasta el negro, originados de las parejas de colores complementarios.

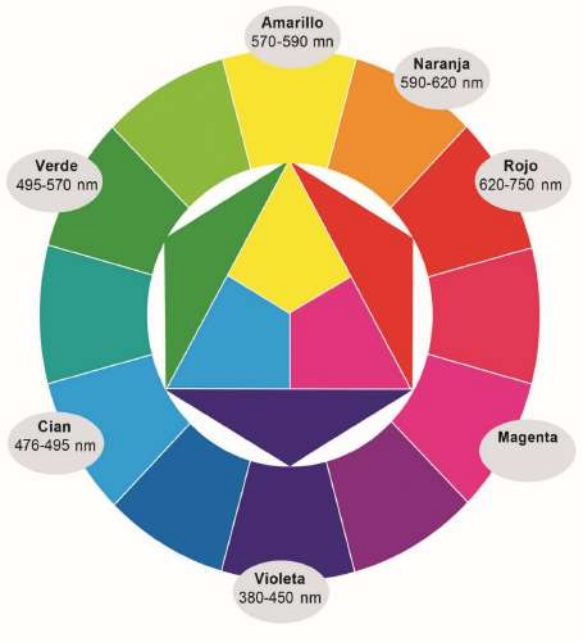
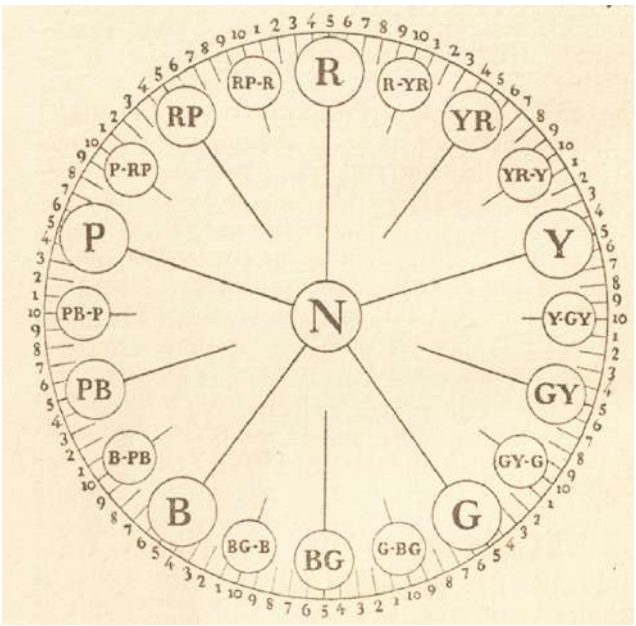


Figura 22. Círculo cromático con colores primarios, secundarios y terciarios, y sus equivalencias en la fracción visible del espectro electromagnético. El magenta no se considera dentro del espectro electromagnético, por eso no se muestran valores correspondientes en el espectro visible.

La esfera cromática, o de colores de Runge, reconstruida primero por Itlen y finalmente perfeccionada por Münsel (figura 23), da una mejor idea de la relación que guardan los colores entre ellos. Ahora bien, si a esta esfera le damos valores numéricos en un sistema de coordenadas, se podrá tener una mejor percepción de la diferencia entre los colores o tonos ubicados en el espacio.



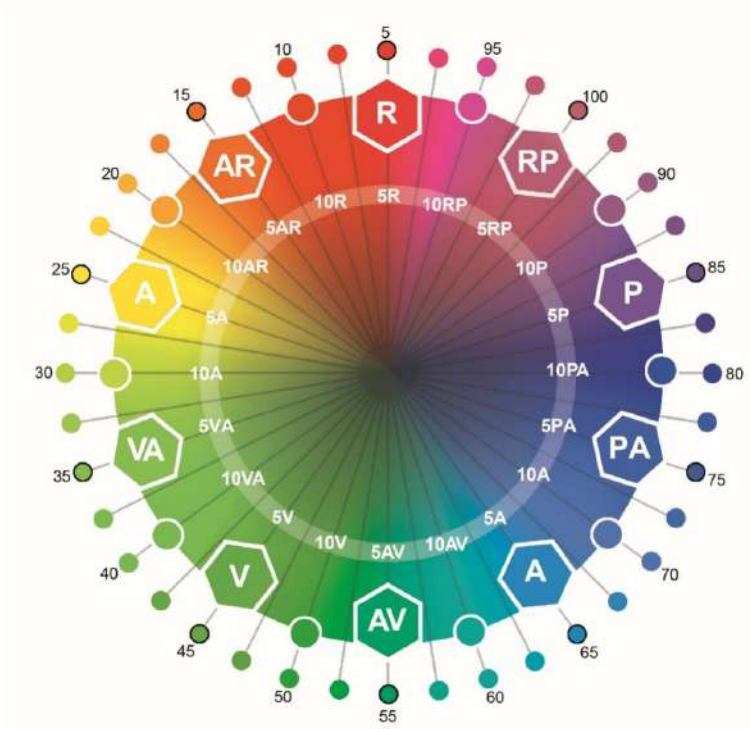


Figura 23. Arriba: círculo cromático original de Münsel, abajo: interpretación moderna con color. R, rojo; P, púrpura; A, azul; V, verde; A, amarillo (Modificado de: Münsell, 1906, p. 20)

Regresando a la percepción del color por las células de la retina, tenemos la ley sustractiva de la mezcla del color, la cual explica los efectos de la percepción, hecha por el ojo, de los colores reflejados por un objeto. Esto es, que la sensación que tiene el ojo de los colores reflejados por un objeto es producida por la absorción o sustracción de cierta longitud de onda, para los colores dentro de un rango del espectro, y para la reflexión selectiva o transmisión de otras ondas. Las células reciben la energía con las sustancias fotoactivas, que se excitan, dependiendo de la cantidad de radiación y de la longitud de onda que reciben.

Como ejemplo, mencionemos que si un objeto refleja luz dentro del espectro rojo y amarillo, se provocarán varios tintes de naranja dentro de las células. En cambio, se producirán tonos de verde en las células, si la luz reflejada por el objeto está entre el amarillo y azul; mientras que, el rojo y azul darán origen a los tonos de púrpura. Finalmente, una mezcla de los tres colores en diferentes proporciones, originarán los tonos de gris, y el negro es el más oscuro de ellos.

De esta manera, se puede observar que, mientras el tono reflejado se aleje más de los colores primarios de los que proviene, se requerirá de una absorción más compleja para poder obtenerlos con mayor precisión.

Por otro lado, cuando los rayos de luz coloreados son mezclados y dispersados por una superficie selectiva, por ejemplo, el blanco puro (por lo cual, no habrá absorción de ningún color), la sensación de color sigue la ley aditiva de las mezclas del color.

Dicha ley sostiene que los tres colores primarios empleados en las mezclas de las sustancias fotoactivas dentro de las células de la retina son rojo, verde y azul; cada uno de ellos cubre aproximadamente un tercio del espectro visible, y al ser mezclados de forma aditiva, se producen los demás colores.

Esto se entiende mejor volviendo al disco espectral del color propuesto por Newton (figura 24), en el cual podemos ver que el color de cualquier zona puede ser duplicado, al mezclar las radiaciones de las dos zonas aledañas, o de dos de las zonas más próximas, lo cual es bastante lógico para algunos colores, pero difícil de entender sin un experimento de óptica.

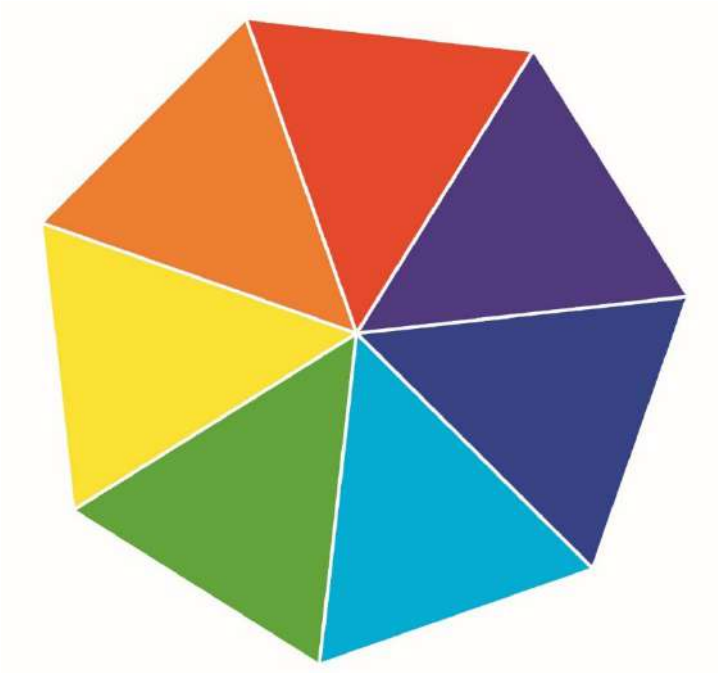


Figura 24. Estilización del disco de Newton

Los sistemas aditivo y sustractivo, explicados por sus correspondientes teorías, son aplicados indistintamente por los conos. Las células sensitivas de la retina están divididas en tres subpoblaciones, cada una produce una sustancia fotoactiva para cada color, o mejor dicho, para absorber un rango del espectro perceptible.

Aunque tienen una distribución aleatoria, los conos producen las rodopsinas, que son sensibles a las radiaciones máximas del rojo, verde y azul. El cerebro agrega y ordena los estímulos complejos, así como los tres individuales, para dar como resultado la imagen sintetizada del color, hecha a la semejanza del color de la luz percibida, o por el color de la luz reflejada por un objeto y percibida por el ojo.

5.2. Percepción de diferentes gamas dentro del espectro visible

La ceguera al color que presentan algunas personas refuerza la teoría tricrómica de la percepción de color, porque, al no poder percibir los colores de forma total o parcial, se sabe que no se produce alguna de las sustancias ópticamente activas para cada uno o todos los colores.

Esta ceguera al color se presenta de varias maneras (figura 25):

- **Ceguera monocromática o acromatopsia**. No se perciben los colores primarios.
- **Ceguera dicromática**
  - ◇ Protanopsia. Ceguera al rojo
  - ◇ Deuteropsia. Ceguera al verde
  - ◇ Tritanopsia. Ceguera al azul
- **Visión tricromática**. Es la percepción normal de los colores.

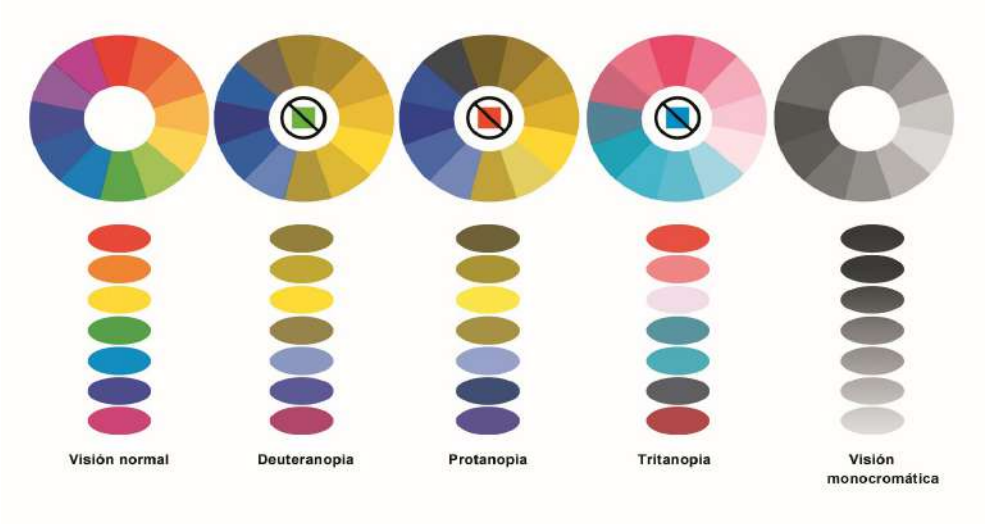


Figura 25. Gama de colores percibidos en distintas cegueras al color

6. Biología celular de la percepción de la luz y el color

La retina es una membrana fotosensible y se localiza en la parte interna del ojo. Su sensibilidad se debe a la presencia de diferentes tipos de células:

- **Conos y bastones**. Corresponden a las células especializadas con sensibilidad a la luz (fotosensibles).
- **Neuronas**. Estructuradas a manera de estratos (capas), que se conectan por medio de sinapsis para conducir el estímulo.

Los conos y los bastones son muy abundantes. Se ha determinado que, en el humano, la retina presenta aproximadamente 6.5 millones de conos y 120 millones de bastones.

Las células sensibles (conos y bastones) no son iguales, ya que reaccionan a la luz de manera diferente, los bastones son sensibles bajo condiciones de luminosidad baja y proporcionan una visión de blanco y negro. Por otro lado, los conos requieren de mucha luminosidad y proporcionan una visión en color.

Los bastones están distribuidos hasta en 250 000 células por milímetro cuadrado, a excepción de la zona de la fóvea (porción central de la retina). Una célula de tipo **bastón** presenta un tamaño aproximado de 50 por 1 micrómetros (μm), y está constituida por tres partes: segmento distal, segmento interno y cuerpo (donde se localiza la terminal sináptica).

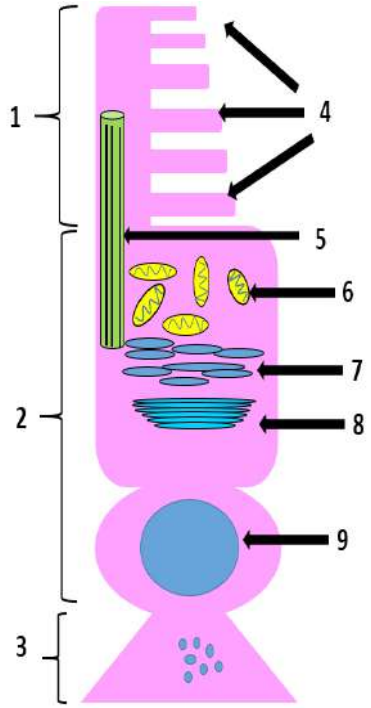
En el **segmento distal** se ubican de mil a dos mil discos membranosos, que se apilan en columnas verticales con un grosor de entre 10 y 15 nanómetros (nm). Los discos en su membrana tienen moléculas de fosfoglicéridos con un alto contenido de ácido docosahexaenoico, con seis dobles enlaces y proteínas, de las cuales, el 90 % es el pigmento **rodopsina** (aproximadamente 30 mil moléculas por disco). Esta proteína constituye el pigmento visual, y está conformada por dos partes: la **opsina**, que es la parte proteica; y por un derivado de la vitamina A, que consta de un cromóforo fotoreactivo (denominado 11-cis-retinal), que se encuentra unido a la opsina, de manera reversible, por un enlace covalente (a nivel de la séptima hélice). Ambas partes se encuentran unidas en la oscuridad, porque, en presencia

de energía lumínica, son inestables y se separan, por lo que requieren de la oscuridad para regenerarse.

La rodopsina es una proteína transmembranal de la familia gpcr (*G-protein-coupled receptors*), es decir, un "receptor acoplado a proteínas G". Su estructura está conformada por una sola cadena polipeptídica (348 aminoácidos), que atraviesa siete veces la bicapa lipídica de la membrana.

Los receptores GPCR sufren un cambio conformacional cuando una molécula señalizadora (extracelular) se une a ellos, entonces, usan una proteína G para transmitir la señal hacia el interior de la célula. En el caso de la rodopsina, es importante comentar que la señal extracelular es un fotón de luz.

Por medio de un cuerpo ciliado (cilio conector), el segmento distal de un bastón se conecta con el segmento medio, que contiene un gran número de organelos membranosos, como mitocondrias, retículo endoplásmico rugoso (RER), aparato de Golgi y el núcleo. Finalmente, la última porción de un bastón es el cuerpo o terminal sináptica, como se observa en la figura 26.

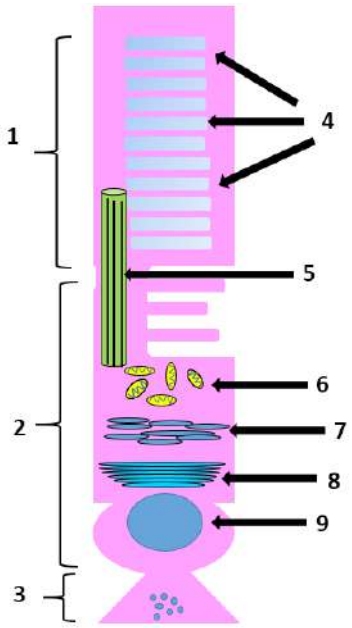


Esquema de un bastón donde se muestra:

1. Segmento externo (distal) de la célula
2 Segmento interno de la célula
3. Cuerpo sináptico
4. Columna vertical de discos membranosos con rodopsina
5. Cilio conector
6. Mitocondrias
7. Retículo endoplásmico
8. Aparato de Golgi
9. Núcleo

Figura 26. Esquema de un bastón
(Basado en: Norianne, 2016, p. 5415-5426)

Por otro lado, las células denominadas conos, se agrupan en el centro de la retina, en la zona de fóvea, a razón de 200 mil células por mm cuadrado. Los conos están constituidos por tres partes: segmento distal, segmento interno y cuerpo con terminal sináptica. En el segmento distal, se localizan las invaginaciones de la membrana plasmática, que constituyen los sáculos de los pigmentos visuales. El segmento interno contiene organelos membranosos, como mitocondrias, RER y núcleo, entre otros. La última porción es el cuerpo o terminal sináptica, como se aprecia en la figura 27. Es la parte "neural" de la retina en un retículo de sinapsis, y en ella abundan gran cantidad de sustancias, como: acetilcolina, acetilcolinesterasa y colinacetilasa.



Esquema de un cono donde se muestra:

1. Segmento externo (distal) de la célula
2 Segmento interno de la célula
3. Cuerpo sináptico
4. Invaginaciones de la membrana
5. Cilio conector
6. Mitocondrias
7. Retículo endoplásmico
8. Aparato de Golgi
9. Núcleo

Figura 27. Esquema de un cono
(Basado en: Norianne, 2016, p. 5415-5426)

6. 1. Fotoquímica del proceso visual

El estímulo visual desencadena tres reacciones: la primera es una reacción fotoquímica, en la que un pigmento absorbe la luz y es alterado por esta interacción. La segunda reacción es un proceso independiente de la luz, donde los fotoproductos obtenidos por la incidencia de la luz, originan un impulso nervioso. El tercer proceso es químico, también independiente de la luz, en el cual se regenera el pigmento original a partir de los productos de la primera reacción, en adición o no de otras sustancias.

Finalmente, la luz que incide sobre la retina se absorbe y se transforma en otro tipo de energía, un impulso nervioso, que es semejante al generado por otros mecanismos sensoriales.

Las sustancias que absorben selectivamente la luz incidente son los pigmentos, y se relacionan con el fenómeno inicial de la visión.

a) Visión de los bastones

Los bastones, como ya se mencionó, contienen la rodopsina, una glucoproteína termolábil (P.M. 41000 Da) insoluble en agua, que se disuelve fácilmente en detergentes. El espectro de absorción muestra una absorción proteica promedio de 275 nm, y una amplia absorción en la región visible, con un máximo de 500 nm. Por efecto de la luz blanca, la rodopsina se disocia para producir la proteína opsina y un carotenoide: el 11-cis-retinal, el cual se reduce a retinol, si continúa el estímulo (figura 28).

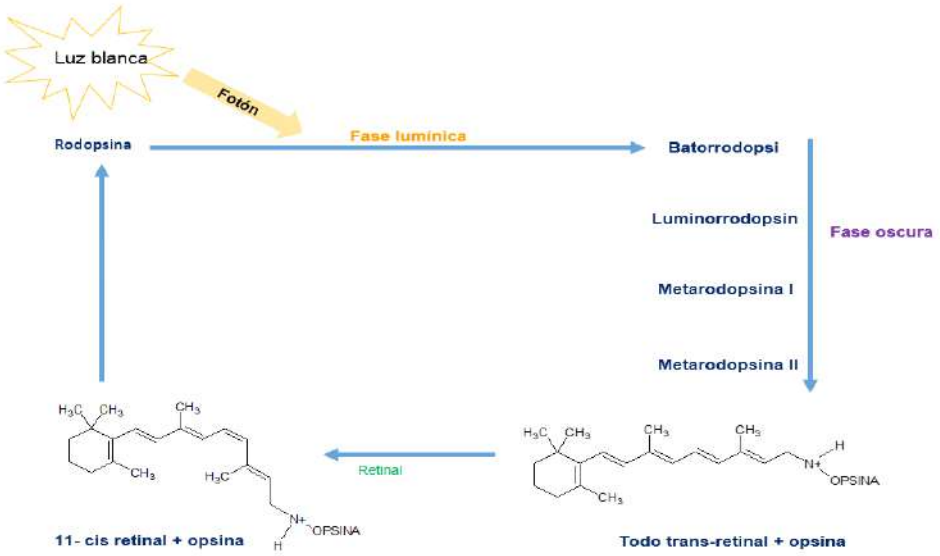


Figura 28. Proceso de activación de la rodopsina

(Basado en: https://areaoftalmologica.com/como-funciona-la-retina/)

La transformación de la rodopsina a 11-cis-retinal y opsina, después de la absorción de un breve e intenso impacto de luz monocromática, es un proceso complejo que se muestra simplificado en la figura 28. En dicho proceso, se forman intermediarios inestables a temperatura corporal, pero que se han estudiado a bajas temperaturas (−268 °C).

La transformación de la rodopsina en 11-cis-retinal y opsina es un proceso endergónico (requiere un aporte de energía), en donde la energía es donada por el fotón absorbido. Por otro lado, la regeneración de la rodopsina es un proceso exergónico (libera energía), que se lleva a cabo espontáneamente por reacción de la opsina con el 11-cis-transretinal, el cual fue previamente isomerizado a partir del todo transretinal por la retinal isomerasa, completándose así el ciclo visual.

La rodopsina es mucho más sensible a la luz que los pigmentos de los conos; con un solo fotón, se libera una molécula del todo-transretinal. La retinal reductasa se parece tanto en función como en estructura a la Isoensima de la enzima alcohol deshidrogenasa hepática.

b) Visión de los conos

De las opsinas de los pigmentos de los conos, se conocen la fotopsina con la que se forma yodopsina, cianopsina y la porfiropsina, estas tres opsinas mezcladas en las proporciones adecuadas pueden absorber casi todas las radiaciones del espectro visible.

6.2. Origen y transmisión del impulso nervioso

En la oscuridad, se mantiene un diferencial de potencial de aproximadamente 300 microvoltios entre las porciones distal e intermedia de los conos o bastones. Una corriente de iones sodio (Na^+) fluye constantemente al interior del segmento distal y hacia fuera del segmento intermedio.

Si la porción receptora o distal se ilumina, se produce una inversión de potencial y la corriente fluye en la dirección contraria a la de la obscuridad, y por un proceso de cascada, los fotones recibidos provocan una fotólisis. La opsina liberada trabaja como activador de la enzima transducina, y tiene efecto sobre una fosfatasa del guanosin monofosfato cíclico, que, al hidrolizarse, impide la entrada de iones sodio a la célula; y al acumularse los iones de potasio con cargas negativas, se produce una hiperpolarización, generando un potencial de membrana.

El número de fotones absorbidos por bastón determina la velocidad y la magnitud del cambio en el potencial y la densidad de la corriente. En la obscuridad, el guanosin monofosfato cíclico (GMPc) se une a las membranas fotoreceptoras y se permite la entrada nuevamente de iones Na^+ desde el exterior. De esta manera, el sistema se equilibra, mediante la salida de iones potasio (K^+). Este proceso de movilización

de iones se ha llamado corriente oscura. El flujo de Na^+ finaliza cuando disminuye la concentración de GMPc, la corriente obscura se equilibra al disminuir el flujo de iones, lo que da como resultado una fotocorriente.

Después del cambio de la rodopsina, se liberan iones calcio (Ca^{2+}) desde el disco, y esta liberación de iones provoca un comportamiento alterado en la membrana, análogo al de la contracción muscular y la transmisión sináptica. De este modo, con la alteración de la membrana provocada por la hiperpolarización y la liberación de Ca^{2+}, se genera una corriente eléctrica en la porción distal de la célula que se difunde rápidamente a la terminación sináptica y a las otras células nerviosas de la retina.

7. Química de los tintes en la coloración biológica

Desde que se utilizaron por vez primera los colorantes naturales para observar una muestra de tejido animal, vegetal o una población de organismos procariotas, se ha especulado sobre el mecanismo por medio del cual se fijan o se tiñen las sustancias colorantes, y provocan la transmisión de la luz en las distintas longitudes de onda que el ojo percibe, en conjunto con el tejido orgánico de células y tejidos. De cualquier manera, el resultado obtenido al aplicar los colorantes sobre los tejidos y sustancias naturales de diferentes formas, permite observar la forma y nos acerca a la comprensión de su función (figura 29).

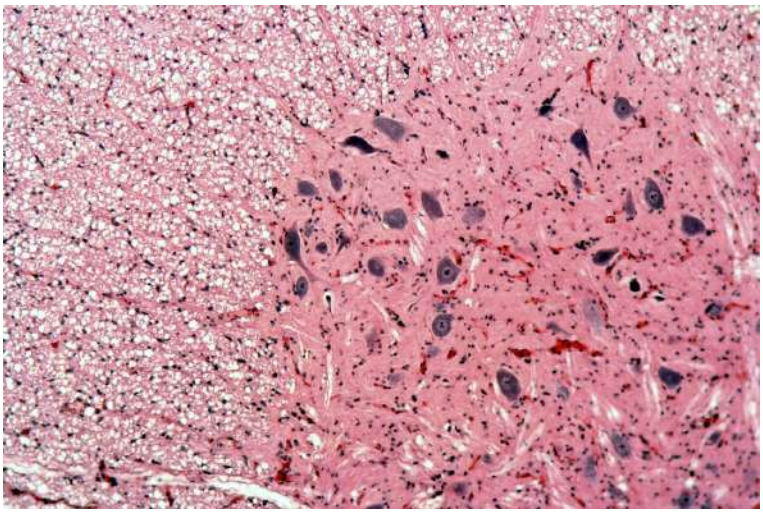


Figura 29. Médula espinal de cerdo, coloreada con la técnica de hematoxilina-eosina

7.1. Proceso de teñido para la industria textil

Las fibras de origen animal o vegetal pueden ser tenidas para después ser utilizadas en la manufactura de tela y ropa (figura 30). La maquinaria de coloración es simple en su operación. El metal Monel (una aleación de níquel y cobre) y otras aleaciones resistentes al ácido son empleados para fabricar los recipientes para los colorantes ácidos. Los contenedores para los colorantes básicos o neutros se hacen de acero inoxidable. Cuando el hilo se tiñe, se mete en un huso, a través del cual

se hace pasar la solución colorante bajo presión, para asegurar la distribución uniforme de todas las partes de los carretes. Los hilos también se pueden colocar en rollos llamados madejas.

Figura 30. Teñido de telas y fibras textiles

(Tomado de: https://montblanc.cl/pages/nuestros-talleres)

7.2. Teorías de las reacciones coloreadas

Estas teorías han tratado de explicar cómo es la reacción entre colorantes y tejidos. En 1876, O. N. Witt, fue el primero que propuso la teoría de los cromógenos (de las voces griegas *cromos* y *genos*: "generador de color"). Todos los compuestos orgánicos conformados principalmente por un esqueleto de anillos bencénicos contienen dentro de su estructura química la capacidad de dar origen a una sustancia colorante. Aunque, en principio, el mismo compuesto cromógeno sea incoloro, estos compuestos contienen uno o varios grupos cromóforos (de las voces griegas *cromos* y *foros* "portador de color"); los cuales son radicales no saturados, que, al estar presentes en una sustancia cromógena, provocan determinado color. Pero, para ser adicionado al tejido como tinte, el binomio cromógeno-cromóforo requiere que actúe un auxócromo (de las voces griegas *auxos* y *cromos* "promotor de color") o grupo radical donador de electrones, con la capacidad de unir el colorante con el tejido por medio de la salificación del compuesto original, desarrollando o aumentando la acción del cromóforo y, por lo tanto, del cromógeno.

En 1888, Armstrong propuso los resultados de su trabajo a la comunidad científica basado en que en los colorantes del tipo quinoide, el color de los tintes se debe en sí a la estructura del compuesto quinoide, las cuales se derivan de las quinonas, en donde uno o ambos átomos de hidrógeno pueden ser reemplazados por otros átomos o grupos.

En 1879, poco después de la teoría de Witt, Nietzki postuló que el color de un tinte (desde el amarillo, pasando por el rojo, hasta llegar al verde) depende de la adición de grupos que aumentan su peso molecular, pero es la naturaleza del grupo adicionado, y no la masa de la molécula, la que determinara la intensidad del color producido.

En 1897, Hantsach explicó la intensidad del color por medio de la conversión de una sal en posición orto o para de nitrofenol. Para entender esta propuesta, hay que tener en cuenta que el color es una propiedad aditiva, y que, por lo tanto, la presencia simultánea de los grupos NO_2 y NO produce un color visible, ya que hay una interacción entre dos grupos, lo que resulta en una nueva estructura de la molécula.

Hewitt y Mitchel, mediante sus observaciones basadas en trabajos de estudios propios, observaron que la oscilación de la frecuencia principal es menor y, por lo tanto, el color es más intenso, cuando la cadena conjugada o adicionada es mayor.

Sircar, al apoyar y generalizar esta regla, concluyó que la intensidad del color es directamente proporcional a la longitud de la cadena conjugada o adicionada, en la parte de la molécula que tenga el grupo auxócromo.

En 1913, Adams y Rosenstein sugirieron que el cristal violeta es responsable de la oscilación de un electrón. Esta idea es retomada por Bury en 1935, quien, al aplicarla a varios colorantes, dedujo que existen estructuras de resonancia extrema, y aseguró que, en los colorantes básicos, la resonancia está asociada con un catión; mientras que, en los ácidos, se relaciona con el anión. Con esto, dichos autores trataron de explicar que la función de un auxócromo es introducir la posibilidad de la resonancia en la molécula de un compuesto cromógeno.

En 1923, Stieglitz, al publicar su teoría de la oxidación, crea un puente entre las viejas teorías y el concepto de resonancia del color, y menciona que los colorantes pierden el color por reducción o por oxidación. Si un cromógeno contiene un cromóforo y un auxócromo, como grupos oxidantes y reductores, respectivamente,

se tiene la presencia de los grupos donadores de electrones dentro de la molécula, pero como una transferencia intramolecular de electrones y no como una extramolecular.

7.3. Clasificación de los colorantes por sus grupos radicales

Hacia 1976, Griffiths, utilizando aspectos de la mecánica cuántica relacionada con los grupos químicos, propone que los colorantes se dividen en cuatro grupos:

- **Cromógenos sencillos**. Compuestos con uno o varios grupos, que permiten la sobreposición de átomos, provocando una variación de longitud de onda dentro de la región visible del espectro.
- **Cromógenos donador-aceptor**. Son grupos que contienen un grupo donador de electrones; esto es, un átomo con un solo par de electrones desapareados.
- **Cromógenos acíclicos o poliencíclicos**. Son sistemas en los que no hay regiones con alta o baja densidad electrónica.
- **Cromógenos tipo cianinas**. Son compuestos en los que se han reemplazado los átomos de carbono terminales por heteroátomos (N^3u O^2) y la simetría electrónica no se afecta. El compuesto resultante conserva las propiedades de la molécula de origen, incluyendo una transición primaria de baja energía. Los colorantes que tienen este cromógeno se conocieron inicialmente como cianinas, por lo que así se les denominó en lo sucesivo a los compuestos coloreados que contienen este mismo sistema electrónico.

8. Clasificación de los colorantes por su origen y aplicación

Los reactivos colorantes que han sido empleados en ciencias biológicas, para evidenciar las diferentes estructuras de órganos, tejidos, y células, se han clasificado arbitrariamente de muchas formas.

La primera de ellas, y la más común, es por su origen.

- **Colorantes naturales**. Pueden ser de origen animal, como el carmín obtenido de la cochinilla del nopal; y de origen vegetal, como la safranina, la orceína o la hematoxilina, esta última ha sido más empleada, incluso más que cualquier otro colorante sintético. La hematoxilina ha sido el colorante más importante para la tinción de núcleos y una gran cantidad de estructuras celulares, parásitos, iones metálicos y vegetales; con ella se puede hacer aparente casi cualquier estructura dentro de las muestras del material biológico.

- **Colorantes sintéticos**. Son de origen mineral, derivados de compuestos orgánicos, como las anilinas y las cianinas. Este grupo abarca una gama muy amplia, ya que contiene cualquier color del espectro visible y para un sinnúmero de usos.

Con excepción de algunos compuestos inorgánicos usados en procesos especiales, como en citoquímica, todos los demás colorantes empleados en ciencias biológicas son compuestos orgánicos sintéticos.

Los colorantes se clasifican de acuerdo con sus características químicas estructurales, pero también se pueden clasificar por el método con el que se aplican, y por la manera en como colorean la muestra. A saber:

- **Colorantes directos o sustantivos**. Se aplican por inmersión directa de la muestra en la solución colorante, la cual satura el grupo orgánico o material por el que tienen mayor afinidad, permitiendo la observación de colores visibles en la muestra. Tal es el caso del azul de metileno y la hematoxilina.

- **Colorantes indirectos**. Se aplican después de que la muestra ha sido tratada con algún mordiente, así el cromógeno puede permanecer unido a los sitios de unión específicos de la muestra, saturando el material biológico y permitiendo la observación de un color. Uno de los ejemplos de este tipo de colorantes son principalmente las hematoxilinas férricas.

- **Colorantes indirectos reversibles**. Requieren de la acción de un mordiente, pero el colorante se agrega de manera inespecífica y generalizada en los tejidos, por lo que se deberá diferenciar. Por lo regular, esto se hace con la misma solución usada como mordiente, hasta conseguir que solamente permanezcan coloreados los sitios que se requieren para la observación del material tratado. Un ejemplo son las hematoxilinas indirectas, en donde el mismo mordente sirve como diferenciador.

- **Colorantes que requieren de una reacción química o "revelado"**. Son compuestos como los colorantes directos, pero, una vez unidos a la muestra, requieren de una reacción química, para que el grupo radical cromóforo o la unión cromógeno-cromóforo pueda evidenciar su unión con la producción de un color visible. El ejemplo más común es en la reacción del ácido periódico de Schiff.

- **Colorantes dispersos o de dispersión**. Son colorantes directos que se caracterizan por no tener ningún grupo ionizante y estar en suspensiones coloidales con partículas muy pequeñas. En general, se aplican en suspensiones alcalinas y tiñen particularmente fibras hidrófobas. Es el caso de la mayoría de los colorantes para grasa, por ejemplo, los sudanes.

- **Colorantes metacromáticos**. Son compuestos que tienen la particularidad de que, en presencia de un compuesto determinado, el grupo cromóforo cambia de color. El más empleado es el azul de toluidina.

- **Colorantes reactivos**. Este concepto fue introducido como tal en 1956. De forma general, cuando son expuestos a cualquier fuente de luz, los colorantes sufren diasotípia, una degradación química o "pérdida" de los puentes generados por el grupo auxócromo. Los colorantes de grado reactivo forman puentes más estables, permitiendo una duración y homogeneidad superiores en las técnicas en las que se emplean.

- **Colorantes híbridos**. Son una combinación de un colorante catiónico con una nanoarcilla, con la finalidad de aumentar su estabilidad y mejorar su resistencia a la degradación por exposición a la radiación o a la temperatura.

- **Colorantes por afinidad química**. Tienen la capacidad de unirse, inicialmente por adsorción y finalmente por puentes de hidrógeno, a cierta conformación de la estructura que se quiere evidenciar, como el azul generado por epifluorescencia, al demostrar el DNA con DAPI (4 ‘,6-diamidino-2-fenilindol).

Cabe señalar que, a lo largo de la historia de la industria textil, los compuestos empleados como mordientes han sido muy variados. Los más comunes son: alumbre, tartrato ácido de potasio, sulfato de hierro, sulfato y óxido de hierro, sulfato de cobre, sulfato de zinc, sulfato de cromo, clorhidrato de estaño, salitre, ceniza, lejía, bicarbonato de sodio, cloruro de sodio, cal, ácido acético, sales de amonio, amoníaco, ácido oxálico, ácido fórmico y ácido pícrico. Algunos de estos compuestos también se han usado de forma muy efectiva dentro de muchos protocolos para tinción en ciencias biológicas.

Otra clasificación muy útil, está basada en el grado de acidez del compuesto, ya sea en estado sólido o en solución, esto también permite que la mayoría de los colorantes se puedan usar como indicadores de pH, como el viraje de rosa-naranja hacia amarillo en los medios esenciales para cultivo celular, o como el rojo de fenol y el naranja de metilo.

- **Colorantes ácidos**. Tienen grupos radicales o cromóforos, que, por sus características químicas, confieren un mayor o menor grado de acidez a la molécula del compuesto en total, por ejemplo, los grupos sulfonio y carboxilo.

- **Colorantes básicos**. Contienen principalmente grupos amino, que, con la adición de un ácido orgánico, forman una sal. Dentro de esta clasificación también están los colorantes neutros o indiferentes, que, por tener la misma cantidad de grupos cromóforos ácidos y básicos, se mantienen dentro de un rango de pH muy cercano a 7.0.

9. Principales grupos químicos de los colorantes

La clasificación de los colorantes por su estructura química se fundamenta en su grupo cromóforo, esto es muy conveniente, ya que se pueden agrupar de acuerdo a similitudes en sus estructuras químicas. La tabla 1 presenta un resumen de las principales características de los grupos químicos, su característica estructural y un colorante como ejemplo.

TABLA 1

Grupo químico	Nombre	Característica estructural	Ejemplo
Grupo I	Nitro	Nitrofenol o nitroarilamina	Ácido pícrico
Grupo II	Nitroso	o-nitrosofenol	Verde rápido O
Grupo III	Azo	Derivados de diazeno (Diimida)	Naranja de metilo
Grupo III A	Mono o poliazo	Azoderivados R-N=N-R'	Rojo congo
Grupo III B	Mordientes	o-hidroxiazo	Colorantes cromados
Grupo III C	Complejos metálicos	Quelatos metálicos sulfonamido	Ortolán
Grupo III D	Pirazolonas	1-fenil-a-benceno azo-5-pirazolona	Tratrazina
Grupo III E	Acetato de celulosa	Derivados aminoazobenzóicos	Escarlata B
Grupo III F	Estilbeno	Estilbeno, azo o azoxi	Amarillo rápido
Grupo IV	Sales de diazonio	R (alquilo o arilo)-N_2 + anion haluro	Rojo rápido
Grupo V	Azoicos	Derivados de alfa y beta naftol	Naranja G
Grupo VI	Sales de tetrazolio	Tetrazol	Azul de tetrazolio
Grupo VII	Fenilmetano arilmetano	Grupos fenilo Grupo arilo	Fucshina, azul de anilina, verde rápido
Grupo VII A	Difenilmetano	=C=NH_2-Cl	Auramina O
Grupo VII B	Diaminotrifenilmetano		Verde de malaquita
Grupo VII C	Triaminotrifenilmetano		Rosanilina, fucshina ácida, cristal violeta
Grupo VII D	Hidroxitrifenilmetano		Azul de timol, ácido rosalico
Grupo VII E	Mononaftilfenilmetano		Azul victoria

Grupo VII F	Dinaftilfenilmetano		Verde naftol B
Grupo VIII	Xantenos	Dibenzo-piran	
Grupo VIII A	Aminoxantenos		Rodamina
	Pironinas		Pironina Y
	Metilados	Tetrametil	Rojo de acridina
	Diaminados		Pironina
	Succineinas		Rodamina S
	Rosaminas		Sulforodamina B
	Rodaminas		Rodamina B
Grupo VIII B	Hidroxixanteno o fluoronas		Eosina, rosa de bengala, floxina
Grupo IX	Acridinas		Naranja de acridina
Grupo X	Quinolinas		Pseudoisocianinas
Grupo XI	Metinos y polimetinos		Rojo de astrazón
Grupo XII	Tiazoles	Aminotiazol, azotiazol-ac, sulfónico, tiazolio	Tioflavinas
Grupo XIII	Quinoneiminas		
Grupo XIII A	Indaminas		Azul de toluileno
Grupo XIII B	Indofenoles		Indio ^{111}In -Oxina
Grupo XIII C	Azinas		Safranina, rojo neutro
Grupo XIII D	Oxacinas		Orceína, azul de Nilo
Grupo XIII E	Tiazinas		Azul de metileno, tionina
Grupo XIV	Aminoquetonas		Azul de alizarina B
Grupo XV	Hidroxiquetonas		Azul de tina 6
Grupo XVI	Antraquinonas		Amarillo de alizarina, anaranjado de Cuba
Grupo XVI A	Hidroxiantraquinonas ácidas	Ácido sulfónico de hidroxi o amino antraquinona	Alizarina
Grupo XVI B	Acetato de celulosa aminoantraquinona	Aminoantraquinona	Azul oleoso
Grupo XVII	Índigo	-CO-C=C-CO-	Indigocarmín
Grupo XVIII	Ftalocianinas		Azul de alciano
Grupo XIX	Naturales	Dibenzopireno	Hematoxilina, carmín, orceína

Grupo XX	Reactivos inorgánicos con propiedades colorantes		
Grupo XXI	Mezclas		Mezclas de Romanosky

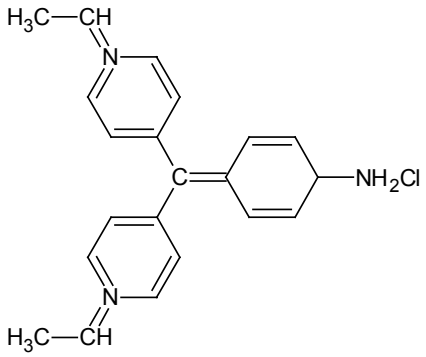
10. Características generales y aplicación de los colorantes más empleados en ciencias biológicas

En este capítulo, se hace la descripción de los colorantes más usados en los laboratorios de ciencias biológicas, y que sirven para evidenciar las diferentes estructuras que conforman a los tejidos y a las células de los organismos.

Aunque las técnicas generales para tinción de material orgánico son pocas y específicas, por ejemplo, la hematoxilina-eosina o la safranina-verde rápido, las variaciones y las técnicas para evidenciar la topografía de: tejidos básicos, secreciones, células especializadas, inclusiones y modificaciones por alguna patología, son muy variadas.

Para entender las diferentes aplicaciones de cada colorante, se mencionarán las características más relevantes de cada compuesto: nombre, sinonimias, número de índice internacional (CI), fórmula (F), peso molecular (PM), acidez del reactivo, solubilidad promedio en diferentes solventes (SOL), absorbancia (ABS), usos, coloraciones y técnicas más empleadas o recomendadas.

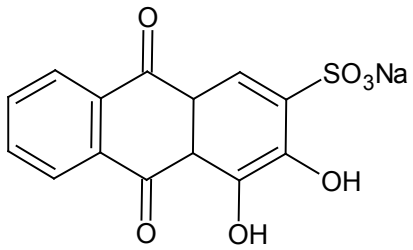
1. Aldehído fucsina



Este colorante es un derivado de la pararosanilina o rosanilina. Se emplea en la técnica de Gomori como tinción de elastina, que se colorea púrpura oscuro en arterias jóvenes; en adultos, la arteria puede o no teñirse.

Es útil para demostrar células granulosas, células del islote pancreático y células hipofisiarias. Es un colorante específico para células glandulares, elastina y gránulos citoplasmáticos.

2. Alizarina roja S



Alizarina, carmín alizarina, rojo W diamante.

CI: 58005

F: C_{14} H_7 O_7 Sn_2

PM: 342.261 uma

Colorante ácido

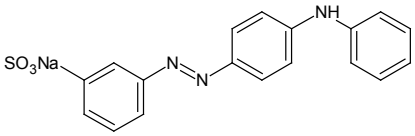
SOL: Agua y álcalis

ABS: 550 nm

Colorante vital para tejido nervioso de invertebrados pequeños; tiñe mielina, esqueleto fetal y cromosomas vegetales.

En histoquímica, tiñe depósitos de calcio y sirve como indicador de rojo a púrpura en pH 3.7-5.2.

3. Amarillo de metanilo



Naranja MNO, MN, amarillo ácido R, amarillo soluble OL, amarillo M, tropaeolin G.

CI: 13065

F: C_{18} H_{14} N_3 S Na

PM: 375.384 uma

Colorante ácido

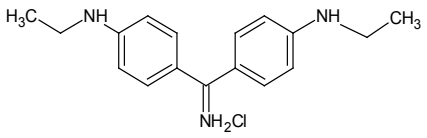
SOL: En agua, 5.36 % a 26 °C; en alcohol 1,45 %. Moderadamente soluble en éter, benceno y cellosolve. Ligeramente soluble en acetona.

ABS: 536 nm, en solución de ácido clorhídrico.

Como indicador, cambia de rojo a amarillo, en pH de 1.2 a 2.3.

Se usa en las técnicas de van Gieson y en la adaptación de Masson. También en mucicarmin, con hematoxilina y amarillo de metanilo.

4. Auramina O



Amarillo canario, amarillo Pyoktanin, Pyokktanium aureum.

CI: 41000

F: C_{17} H_{22} N_3 Cl

Colorante básico

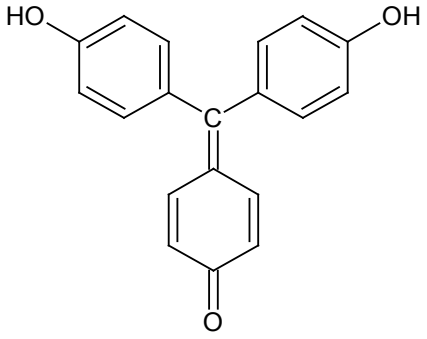
PM: 303.838 uma.- H_2O+321.853 uma

SOL: Agua 1 % alcohol 4 %, cellosolve 1.25 %, glicol 0.75, xileno 0.5 %

ABS: Entre 431 y 434 nm

Fue empleado como fármaco hasta 1940. Colorea secciones de vegetales, contrastando con cristal violeta. Colorante vital para larvas de salamandra. Se usa en microscopía fluorescente para estudiar bacilos de tuberculosis, en frotis extensiones y cortes. También se usa como fluorocromo para fibras elásticas en piel y esporas bacterianas.

5. Aurina o ácido rosólico



La coralina amarilla es la sal de sodio del ácido rosólico.

CI: 43800

F: C_{20} H_{16} O_3

PM: 304.349 uma

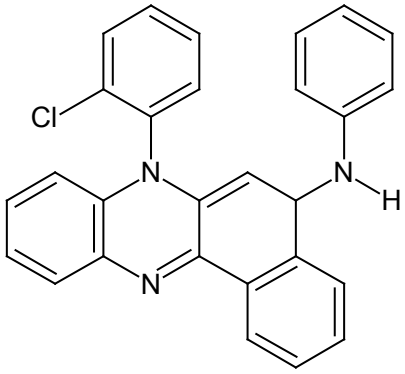
Colorante ácido

SOL: Insoluble en agua, soluble en alcohol, la sal se sodio es soluble en las dos.

Empleado principalmente como indicador del rango 6.8 a 8.2 de pH, con color amarillo a rojo.

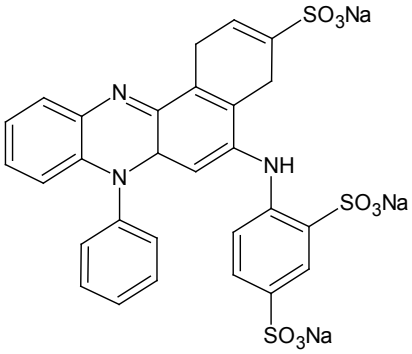
Se usa en coloraciones para sangre, como la de Pappenheim.

6. Azocarmín



Esta fórmula es la base para la formación de la familia de azocarmines.

7. Azocarmín B



Fiat-764 BX, carmín Basalan, azocarmín BX.

CI: 50090

F: $C_{28}\ H_{17}\ N_3\ O_9\ S_3\ Na_2$

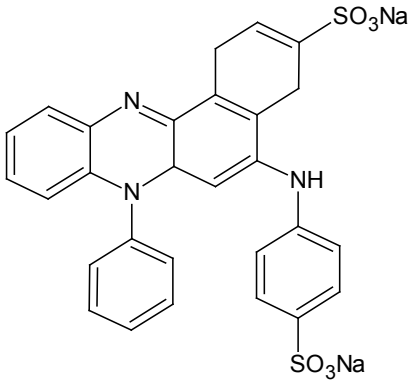
PM: 681.634 u

Colorante básico

SOL: 1.0-2.0 % en agua y 0.01 % en ácido acético

Se usa en las técnicas de Heidenhain, de Molliers con orceína, fuschina-resorcina de Volkmann y la variante de Gomori para células de islotes pancreáticos.

8. Azocarmín G



Fiat-764 GX, carmín Basalan.

CI: 50085

F: $C_{28}\ H_{18}\ N_3\ O_6\ S_2\ Na$

PM: 579.590 uma

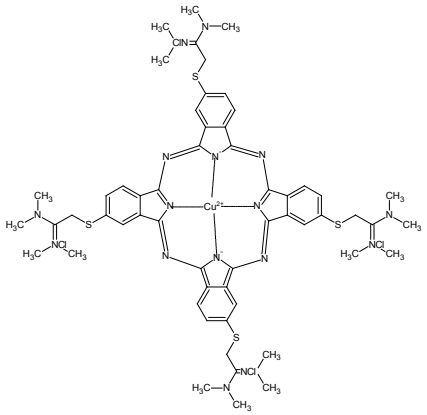
SOL: Satura el agua al 1 %

ABS: 510-514 nm

Colorante básico.

Tiene las mismas aplicaciones que el azocarmín B.

9. Azul de alciano



Azul de alciano 8, GX.

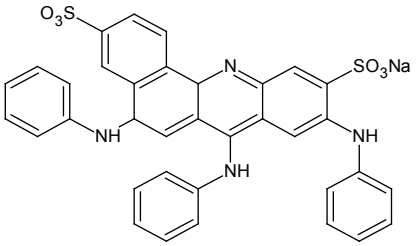
CI: 74240

F: C_{32} H_{12} N_8 Cu + 4 grupo onium (C_6 H_{12} N_2 Cl S)

PM: 1265.325 uma

Colorante metacromático para mucinas, se puede usar en combinación con la técnica del ácido periódico de Schiff (**PAS**). Empleado en el método de Mowry de ácido siálico. También se usa para la comparación e identificación de células inmunofluorescentes. Puede identificar mucopolisacáridos ácidos, básicos o neutros, dependiendo del pH de la solución colorante.

10. Azul de lana rápido BL y GL



Azul de lana rápido de Coomassie BL o GL, respectivamente, azul de lana pontacyl BL, azul ácido 59, azul de bencilo GL y azul G.

CI: Azul BL 50315

CI: Azul GL 50320

F: Azul BL, C_{34} H_{23} N_4 O_6 S_2 Na

F: Azul GL, C_{35} H_{25} N_4 O_7 S_2 Na

PM: Azul BL 670.703 uma

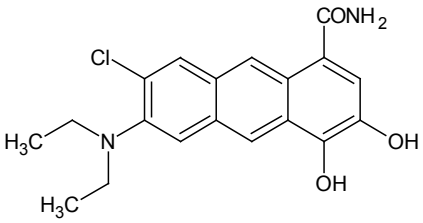
PM: Azul GL 700.734 uma

SOL: el azul BL es muy soluble en agua etanol y cellosolve, pero insoluble en benceno y tolueno.

SOL: el azul GL es soluble en agua y alcohol.

Los dos se utilizan para teñir proteínas de color azul intenso.

11. Azul celeste



Coreina 2R, azul de celestine, azul cielo gallo.

CI: 51050

F: C_{17} H_{18} N_3 0_4 Cl

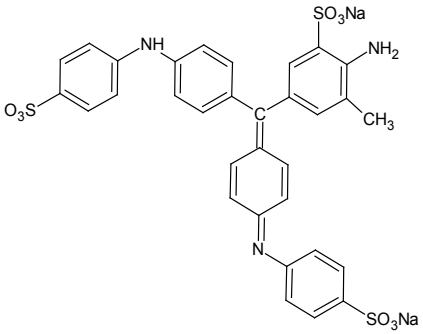
PM: 363.804 uma

SOL: Agua 2 %, alcohol 1.5 %, cellosolve 2.25 %, glicol 6.25 %, xileno 0.005 %

ABS: 654.5 nm

Buen colorante nuclear para coloraciones de rutina y tricrómicas, es de los mejores sustitutos de la hematoxilina. Usado en la coloración modificada de Mallory para teñir tejido conectivo, se puede contrastar con eosina o cromotropo 2R.

12. Azul de anilina



Azul china, azul soluble 3M, azul marino V, azul algodón y azul agua. Fiat 764.

CI: 42755

F: C_{32} H_{25} N_3 O_9 S_3 Na_2

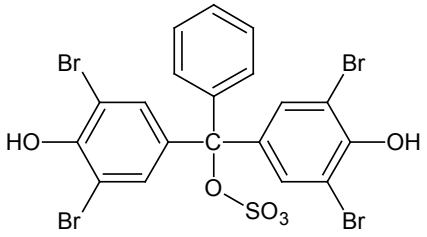
Colorante ácido

PM: 737.742 uma

ABS: 594-610 nm

Se usa en la técnica de Mallory para tejido conectivo y fibras de colágeno. Colorea de azul el retículo, los amiloides y las mucosas en la técnica de Lillie y en la tricrómica de Masson. También se usa en la técnica de Unna para contrastar a la orceína, en combinación con hematoxilina como método polícromo. Puede contrastar a la safranina en plantas vasculares y en algas, con eritrosina y flhoxina.

13. Azul de bromofenol



Sin sinónimos

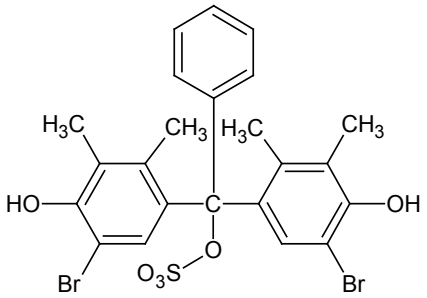
F: $C_{19}\ H_{10}\ O_5\ S\ Br_4$

PM: 669.969 uma

Colorante ácido

Se usa en la demostración de grupos amino en proteínas y en la coloración de proteínas.

14. Azul de bromotimol



Sin **CI**

F: $C_{27}\ H_{28}\ O_5\ S\ Br_2$

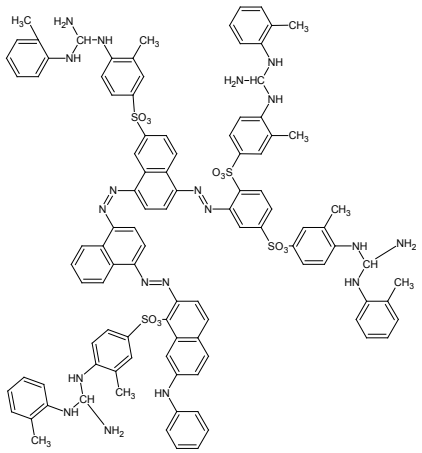
Colorante ácido-base

PM: 624.393 uma

Se usa como indicador: amarillo=ácido, verde=neutro, azul=básico.

Se usa en la coloración vital de Mc Master y Parson. También para raíces de hongos en la técnica de Garrett, así como indicador general para medios de cultivo.

15. Azul de luxol rápido



Sal de azul sirio claro y azul directo 78

Sin **CI**

F: $C_{102}\ H_{97}\ N_{19}\ O_{13}\ S_4$

Colorante ácido

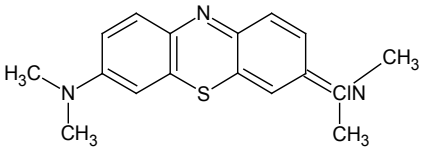
PM: 1925.4866 uma

ABS: 598 nm

SOL: Es soluble en una solución acuosa de gelatina, insoluble en agua; muy soluble en etanol y cellosolve; soluble en metanol, isopropanol e isobutanol; poco soluble en acetona; es insoluble en grasas e hidrocarburos.

Se usa en la coloración selectiva de mielina, en la técnica de Klüber-Barrera. Colorea selectivamente colágena y elastina.

16. Azul de metileno



Azul de metileno BX, B, BG, BB.

CI: 52015

F: C_{16} H_{18} N_3 S Cl

PM: 319.859 uma

Colorante básico

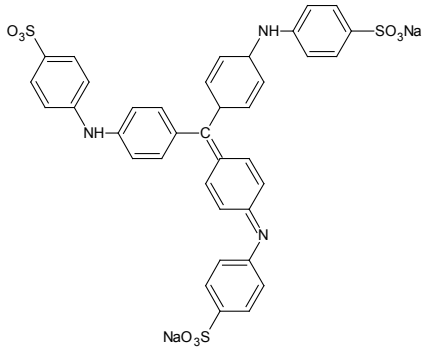
SOL: Agua entre 3.5 y 9.5 % y alcohol, entre 1.48 y 63 %, cellosolve 6.5 % y glicol 10 %

ABS: Si es puro, 663-667 nm

Es empleado en los siguientes métodos:

Policromo para piel de Unna. Azul de metileno y bórax de Mallory. Orceína de Darrows. Tinción supravital para terminaciones nerviosas de Erlich. Método tetracrómico de Mc Neil. May Grunwald-Giemsa. Para bacterias ácido-resistentes de Ziehl-Neelsen. Tinción negativa para bacterias de Butt. Para cápsulas de baterías de Loeffler. Contraste de flagelos. Técnica de Gohar para voluntina. Técnica de Kimnyoun para gránulos de volutina y difteria. Para rickettsias de Macciavelo. Técnica de Diene para micoplasmas. Para extensiones de Levowits-Weber. Azul de metileno para bacterias en membranas de filtro. Como contraste en técnicas para cuerpos de Negri, Zeller, Schleifstein, Stovall-Black y Harris. Para *Micoplasma leprae* de Fite y para malaria.

17. Azul de metilo



Azul algodón, azul de anilina WS, azul helvético, azul tinta, azul soluble, azul cielo, azul Poirrier C4B.

CI: 47280

F: $C_{37}\ H_{27}\ N_3\ O_9\ S_3\ Na_2$

Colorante ácido

PM: 799.814 uma

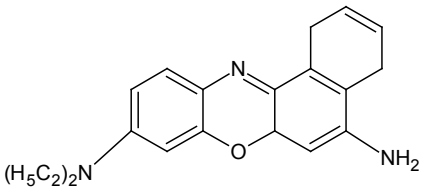
SOL: Soluble en agua

ABS: 607 nm

Empleado principalmente para teñir tejido conectivo y, particularmente, para colorear colágena, en las técnicas de: Van Gieson, Masson, Mallory y alocrómica de Masson-Van Gieson.

Es útil como contraste del carmín y la safranina, solo o en combinación con ácido pícrico. En la técnica de Man, se mezcla con eosina para colorear células nerviosas. Colorea cuerpos de Negri. También se usa en la tinción negativa de bacterias, y colorea tejidos sin fijar. Para tinción vital de protozoarios. Mezclado con ácido pícrico, tiñe la colágena en la técnica de Lilie.

18. Azul de Nilo



CI: 51180

F: C_{20} H_{20} N_3 O Cl

Colorante básico

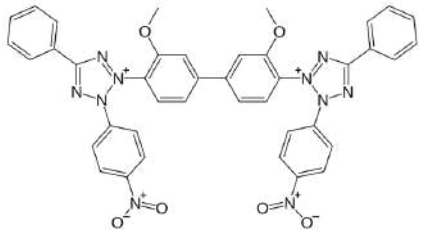
PM: 353.855 uma

SOL: Agua 6 %, alcohol 5 %, cellosolve 5 %, glicol 5 %, xileno 0.25 %

ABS: 635-645 nm

Se ha empleado en la técnica de Smith-Mair para grasa y como colorante supravital para embriones. También como coloración vital para protozooarios, hidras, levaduras, huevos de anfibios, secciones de hueso y paredes vegetales no lignificadas; así como para estudios histoquímicos del ergastoplasma. Asimismo, se le usa en el reconocimiento de bacterias lipolíticas y como indicador desde azul, pasando por rojo y hasta púrpura, pero en un rango muy limitado de pH 10-11.

19. Azul de tetrazolio



Cloruro de nitroblue tetrazolium, nitroazul de tetrazolio, nitro BT y NBT (Nitro blue tetrazolium).

F: $C_{40}\ H_{30}\ Cl_2\ N_{10}\ O_6$

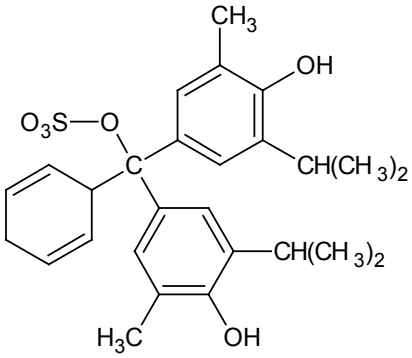
PM: 817.64 uma

SOL: Muy soluble en agua, pero se reduce rápidamente.

ABS: En metanol, 250-255 nm

Empleado como indicador redox en reacciones enzimáticas para evidenciar la actividad de dehidrogenasas, treonina desaminasas, glucosa 6 fosfato desaminasa y particularmente fosfatasa alcalina. Viabilidad de cultivos celulares y fagocitosis en macrófagos.

20. Azul de timol



Timolsulfoneftaleina

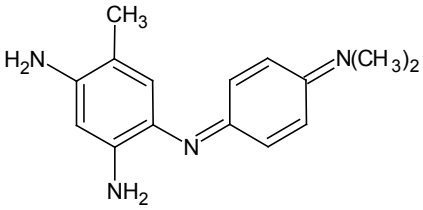
F: $C_{27}H_{30}O_5S$

PM: 466.59 uma

SOL: poco soluble en agua, 0.1 % en etanol.

Es usado como indicador y en la valoración del ácido cítrico. Además, se le utiliza como indicador rojo violeta-amarillo marrón de 1.2 a 2.8 de pH. Y verde amarillento a azul de 7.8 a 9.5 de pH.

21. Azul de toluidina O



Azul de metileno T50 o T extra, cloruro de tolonium y cloruro de bluteno.

CI: 52040

F: C_{15} H_{16} N_3 S Cl

Colorante básico

PM: 305.832 uma

SOL: Agua 3.82 %, alcohol 0.57 %, cellosolve 03.5 % y glicol 55 %

ABS: 620 a 638 nm

Colorante nuclear y para gránulos cromófilos

Es el principal reactivo de elección para producir metacromasia, ya que hace evidentes: células cebadas, cartílago y ciertas mucinas ácidas.

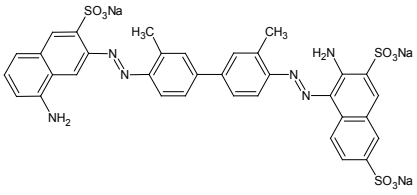
Usado en la coloración pancromática de Pappenheim. En la coloración para difteria de Albert puede reemplazar al azul de metileno. Tiñe gránulos de Nissl. Es reactivo químico en la estandarización de heparina e histoquímico en determinaciones de ADN. Forma parte de la coloración para sangre de Dominici.

En plantas, permite la coloración vital de vacuolas, protoplasma y paredes no lignificadas.

Presenta ortocromasia abajo de pH 3 y metacromasia por arriba de este punto.

Se recomienda como contraste en los métodos para retículo de Maresch, coloración de Nissl; para embriones completos junto con alizarina, para materiales metacromáticos: para células metacromáticas de islotes pancreáticos, para plantas embebidas en resina; en la coloración de Albert para microorganismos de difteria, en la coloración de gránulos de volutina de Kinyoun, para micoplasma de Dienes, y en la coloración vital de protozoarios de Kirby.

22. Azul de tripan



Azul clorazol 3B, azul benzo 3B, azul dianil H3G, azul Congo 3B, azul naftamina 3VX, azul benzamina 3B, azul azidina 3B, azul Niagara 3V y azul diamino 3B.

CI: 23850

F: $C_{34}\ H_{224}\ O_{14}\ S_4\ Na_4$

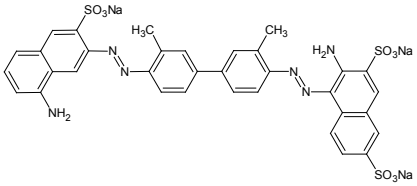
Colorante ácido

PM: 960.817 uma

SOL: Agua 1 %, alcohol 0.0 2 %, cellosolve 2.1 % y glicol 7.15 %

Principal colorante para el sistema retículo endotelial. Colorante vital que, al ser inyectado en el torrente sanguíneo, colorea los túbulos uriníferos, así como otros tejidos de mamíferos, vertebrados inferiores e insectos. Se le usa en la técnica de Puchtler-Bennhold para amiloide; en el agar clamidospora para hongos, y se puede usar como colorante de sustitución en la técnica tricrómica de Van Gieson.

23. Benzo purpurina 4b



Purpurina 4B, rojo papel 4B, rojo sultán 4B, rojo algodón 4B y 31 nombres comerciales más.

CI: 23500

F: $C_{34}\ H_{26}\ N_6\ O_6\ S_2\ Na_2$

Colorante ácido

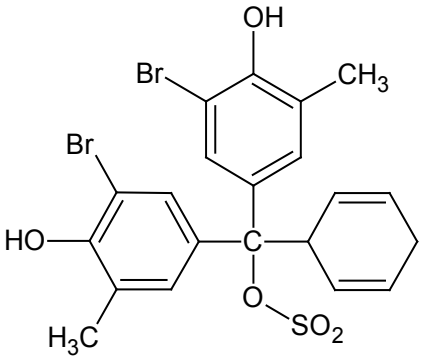
PM: 724.731 uma

SOL: Agua, alcohol, acetona, cellosolve.

Colorante citoplasmático para contrastar a las hematoxilinas. Se le usa como indicador de violeta a rojo, en el rango de pH 1.2 a 4.0.

Colorea de rojo brillante: algodón, lana, seda, nylon, yute, papel, piel y lino.

24. Bromocresol púrpura



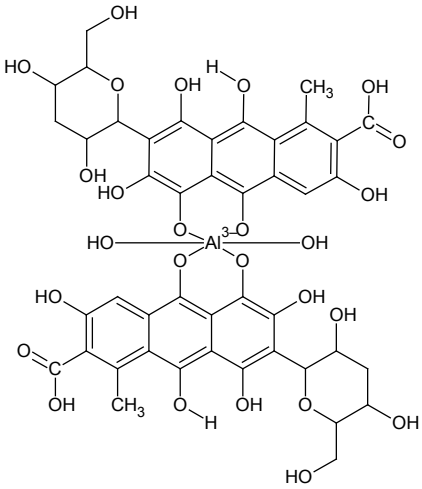
Sin número de **CI**

F: $C_{21}\ H_{26}\ O_5\ S\ Br_2$

PM: 540.231 uma

Utilizado como colorante vital, indicador de pH general y en medios de cultivo.

25. Carmín



Cochinilla, carmín de cochinilla, rojo natural 4.

CI: 75470

F: $C_{44}\ H_{37}\ O_{27}\ Al\ Ca_3\ H_2O$

PM: 1118.783 uma

Colorante ácido

SOL: Ligeramente soluble en agua neutra.

Principalmente, es un colorante para coloración nuclear, pero también puede ser usado como contraste en solución alcalina. Tiñe cromosomas, en botánica para evidenciar el sistema vascular.

El extracto de cochinilla o carmín se prepara al hervir el ácido carmínico con acetato de plomo o hidróxido de bario.

Las técnicas más recomendadas para este colorante natural son: acetocarmín para squash de cromosomas en larvas o en meristemos, el acetocarmín férrico para teñir los microsporocitos en extensiones de anteras (tanto en preparaciones semipermanentes como en permanentes), acetocarmín-negro de clorazol, acetocarmín y fuschina para cultivo de tubos de polen, carmín de Best, carmín litiado de Orth, mucicarmín con hematoxilina amarillo de metanilo, carmín litiado de Orth para la técnica de Weigert (para demostrar elastina), y acetocarmín de hierro para protozoarios.

26. Colorante de Giemsa

Es una mezcla de diferentes colorantes que, al mezclarse en el balance exacto, producen un colorante polícromo con capacidad metacromática.

Componentes:

Azur A **CI**: 52005 0.5 gramos (g)

Azul B **CI**: 52010 2.5 g

Azul de metileno eosinato **CI**: 52015 2.0 g

Glicerol grado reactivo 375 mililitros (mL)

Alcohol metílico grado reactivo 375 mL

ABS: Máxima 650 nm

Es un colorante usado principalmente para teñir extensiones de sangre de cualquier organismo. Pero también se puede emplear para teñir cortes, obtenidos por la técnica de inclusión en parafina de rutina.

Se ha usado en diversas técnicas, las siguientes son las más conocidas: coloración de Giemsa para extensiones delgadas y gruesas, técnica de May Grünwal-Giemsa, azur B (para demostrar el virus del mosaico del tabaco de Balds), para núcleos bacterianos de Robinow, para micoplasma de Kleineberger-Noble. Para teñir malaria, lesmania y tripanosomas en frotis o extensiones. Para microorganismos en secciones de tejidos en parafina, además de la técnica de Wolbach-Wenyon sobre frotis frescos, y en la tinción de cromosomas.

27. Colorante de Leishman

Este colorante resulta de una mezcla compleja de diferentes colorantes, es utilizado para teñir extensiones delgadas de sangre. El colorante de Leishman es una modificación de la técnica de Jenner y Nocht, método precursor del método de Wright.

Componentes:

Eosina acuosa al 1.0 %

Azul de metileno policromo (solución ácida del colorante), en solución acosa al 1.0 %

Una vez hecha la mezcla de los componentes, se filtra, y después de que el precipitado se ha secado, se le re suspende en alcohol metílico al 0.15 %.

28. Colorante de Wright

Es una mezcla de colorantes, usado para extensiones delgadas de sangre.

Componentes:

Eosina y azul de metileno polícromo, solución ácida del colorante.

ABS: 650-656 nm

29. Colorante de May Grünwald

Es una mezcla compleja de colorantes, usada para teñir extensiones delgadas de sangre. Fue propuesto originalmente por Pappenheim y modificado por separado por Eduard Jenner y el bacteriólogo alemán May Grünwald.

Componentes:

Eosina Y o amarillenta, y azul de metileno polícromo en solución ácida del colorante, en solución acuosa al 0.1 %.

La mezcla se deja reposar unos días. Posteriormente, el precipitado se lava, se seca y se disuelve en frío en alcohol metílico hasta la saturación.

30. Colorante diferencial de Shorr

Es una mezcla de colorantes que tiene entre sus componentes un mordente. Se utiliza principalmente para extensiones o frotis, en donde se necesita observar claramente la morfología celular. Aunque se usa para observar citología exfoliativa y particularmente diagnóstico hormonal en extensiones vaginales, ofrece mucha claridad de los cilios en muestras en parafina. También se usa para contrastar a la hematoxilina, y en la tinción de espermatozoides.

Componentes:

Solución acuosa de alcohol etílico al 50 %

Escarlata de Biebrich 0.5 %

Naranja G 0.5 %

Verde rápido FCF 0.75 %

Ácido fosfotúngstico 0.5 %

Ácido acético 0.1 %

31. Colorante de Jenner

Mezcla compleja de colorantes, utilizada para extensiones delgadas de sangre. Esta mezcla fue propuesta originalmente por Romanowski y Pappenhein, y posteriormente, modificada por separado por Jenner y May Grünwald.

Componentes:

Eosina amarillenta en solución acuosa al 1.25 %, se le añade a una solución acusa de azul de metileno al 1.0 %.

El precipitado es reposado durante 24 horas y se diluye al 0.5 % con alcohol metílico.

Es una tinción general para bacterias y, particularmente, tiñe a los parásitos del paludismo en azul.

32. Colorante de Pappenheim

Esta mezcla de colorantes para sangre es una de las precursoras en la tinción múltiple para los componentes sanguíneos. Se usó para teñir extensiones de sangre hasta que otras mezclas colorantes le superaron en definición y contraste.

Componentes:

Ácido rosólico en alcohol absoluto etílico al 1.0 % y se le añade azul de metileno hasta saturar la solución y, finalmente, se agregan 20 partes de glicerina.

33. Colorante de Romanowski

Esta mezcla de colorantes fue propuesta y empleada por primera vez por Romanowski en 1891 y Malachowski en 1891.

Componentes de la solución madre:

Solución acusa de azul de metileno al 1.0 %

Solución acusa de eosina al 1.0 %

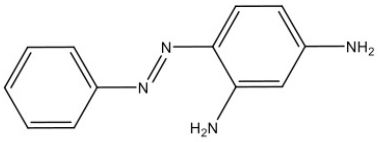
Las soluciones anteriores se calientan por separado, durante 30 minutos, hasta alcanzar una temperatura entre 105 y 110° C.

Las dos soluciones colorantes se mezclan en frío antes de su uso.

La solución de trabajo es: una parte de azul de metileno y dos partes de eosina.

Tiñe de color rojo los eritrocitos, de color azul los parásitos y de violeta la cromatina nuclear.

34. Crisoidina



Chrysoidin, crisoidina Y, G, A, sal café R, sal café oscuro R.

CI: 11270

F: C_{12} H_{13} N_4 Cl

Colorante básico

PM: 248.17 uma

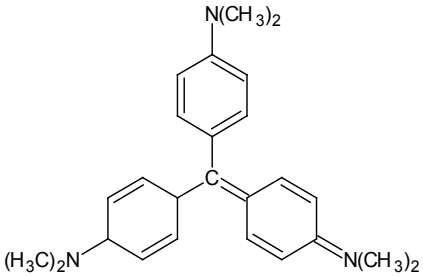
SOL: Agua 0.86 %, alcohol 2.21 %, soluble en cellosolve, ligeramente en acetona, e insoluble en benceno.

ABS: 461 nm

Este colorante es un excelente sustituto para el pardo de Bismark, se puede usar como colorante vital para tubos de polen e insectos, aparato de Golgi, y para el estudio de la secreción gástrica.

Ocasionalmente, se utiliza en histología animal o vegetal como colorante café, es rosa en solución ácida y naranja en neutralidad; es indicador para el rango de pH 4.0 a 7.0, de naranja a amarillo.

35. Cristal violeta



Violeta C, G, 7B, violeta de exametilo, violeta de metilo en 10B y violeta de Genciana.

F: C_{25} H_{30} N_3 Cl

Colorante básico

PM: 407.991 uma

SOL: Soluble en agua, metanol, etanol, cloroformo, ácido oleico, ácido esteárico, y tolueno; ligeramente soluble en acetona, benceno, glicol, glicerol, parafina y licroina.

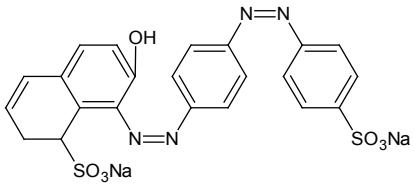
Insoluble en éter, acetato de etilo, aceite mineral, agua Na_2 y Ca_3.

Es un colorante nuclear con una gran apetencia por los cromosomas. Se ha usado en un sinnúmero de aplicaciones histológicas y citológicas.

Las más empleadas son las siguientes: tinción de Gram, tinción metacromática para amiloide, tinción de Jackson para tejido vegetal en licuefacción, para microsporocitos, para tejidos meristemáticos, tinción de Flemming, tinción de Newcomer para cromosomas en túbulos de polen, tinción de Antonni-Hiss para cápsula, técnica de Möller para tinción positiva de cápsula bacteriana, técnica de Lechman para tinción diferencial de esporas, tinción de Robinwo para DNA bacteriano, tinción de De Lamater para espiroquetas, tinción de Harris para espiroquetas. En piezas procesadas en parafina, para la aplicación de las técnicas de Taylor Brown-Brem, Gram para bacterias y de Becker para hongos.

Funciona muy bien como indicador para el rango de pH entre 0.0 a 1.8, virando de amarillo a azul violeta.

36. Croceina escarlata



Biebrich escarlata o escarlata de Biebrich.

CI: 27155

F: $C_{22}\ H_{14}\ O_7\ S_2\ Na_2$

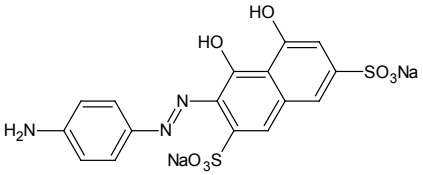
PM: 557.187 uma

SOL: Etanol y agua

Colorante básico

Colorante para núcleo, hueso, cartílago, tejidos conectivos y músculo. Puede ser empleado en sustitución de las eosinas como contraste de cualquier hematoxilina.

37. Cromotropo 2R



Cromotropo RR, 2NR, cromotropo azul 2R, fucshina rápida G, XL, carmoisina 6R, floxina ácida GR.

CI: 16570

F: $C_{16}\ H_{10}\ N_2\ O_8\ S_2\ Na_2$

PM: 468.374 uma

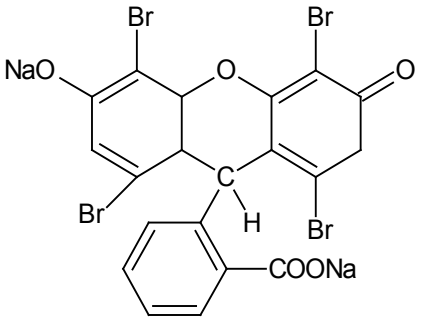
Colorante ácido

SOL: Cellosolve, agua 19.3 %, alcohol 0.17 %, moderadamente en acetona, e insoluble en otros solventes orgánicos.

ABS: 542 nm

Colorante citoplasmático general para plantas y animales. Es el colorante ácido principal para el contraste en la técnica tricrómica de Gomori. Se puede usar como contraste de las hematoxilinas y del azul celeste, puede sustituir a la xilidina punzó en la técnica de Masson. Es un colorante selectivo de glóbulos rojos y de las granulaciones de las células de Pannet.

38. Eosina amarillenta



Eosina Y (yellowish), G, eosina soluble en agua, eosina WG, ácido bromo, eosina J, TS, XLO, XX, bromofluoresceina, bromo bronce ES, eosina B extra, eosina Y extra, YS extra.

F: $C_{20}\ H_6\ O_5\ Br_4\ Na_2$

PM: 691.863 uma

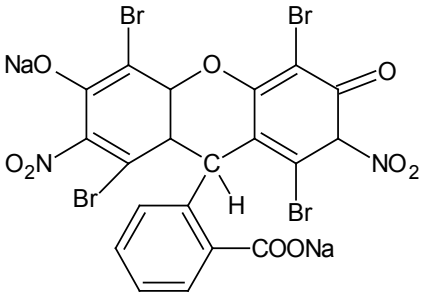
ABS: 515 a 518 nm

Colorante ácido

SOL: En agua 44.20 % y en alcohol 2.18 %

Es uno de los colorantes de contraste y referencia más empleados, algunas de las técnicas en las que es utilizado son las siguientes: como contraste para la mayoría de las hematoxilinas, en la técnica de Papanicolau, en la tinción negativa para cápsulas bacterianas. También se le usa para evidenciar cuerpos de Negri, mediante las tinciones de Bonds-Mann y de Harris. Se le utiliza como contraste para la técnica de plata-metenamina de Gomori, y para el diagnóstico de la malaria.

39. Eosina B



Eosina BMX.

CI: 45 400

F: $C_{20}\ H_6\ N_2\ O_9\ Br_2\ Na_2$

PM: 524.066 uma

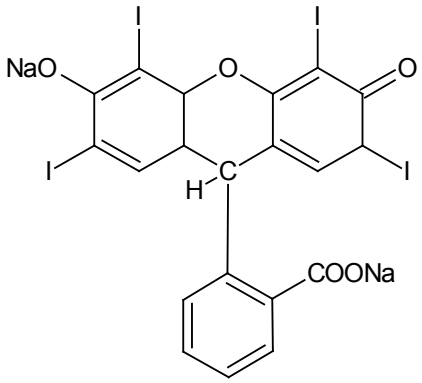
SOL: Agua 39.11 % y alcohol 0.75 %

ABS: 516.519 nm

Este colorante es el más ácido de las eosinas, tiene un tono más azuloso que la eosina Y.

Se utiliza como contraste para las técnicas con hematoxilina, pero principalmente para la hematoxilina de Mayer. Además, se le usa en el eosinato de azur amortiguado, y para contrastar al azul de toluidina.

40. Eritrosina



Eritrosina B, N o JNG, pyrosina B, eosina J, iodoeosina B, diantina B.

CI: 45430

PM: 879.8865 uma

F: $C_{20}\ H_6\ O_5\ I_4\ Na_2$

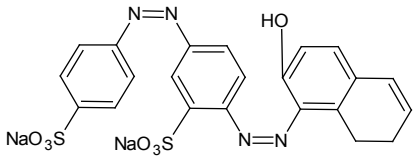
CI: 524 a 527 nm

Colorante ácido

SOL: Agua 10 %, alcohol 5 %

Este colorante es muy útil para contrastar a la mayoría de las hematoxilinas y algunas técnicas de coloración nuclear azul o violeta. En conjunto con el cristal violeta, es recomendable para histología vegetal. Se puede usar para tinción bacteriana de suelos, en la técnica para tejidos leñosos de Jackson, y como indicador fluorescente en el rango entre 0.0 y 3.6 de pH, del amarillo a rojo.

41. Escarlata de Biebrich



Croceina escarlata, escarlata B, EC, escarlata 3B, punceau 3BR, 3RP, escarlata doble BSF.

CI: 26905

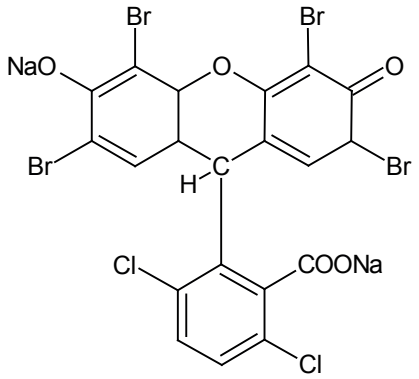
Colorante ácido

F: $C_{22}\ H_{24}\ N_4\ O_7\ S_2\ Na_2$

PM: 556.487 uma

Colorante citoplasmático que es un buen contraste para las hematoxilinas y el azul de metileno. Tiñe los islotes pancreáticos; se puede usar en la técnica tricrómica de Masson y en la de Shorr para teñir frotis vaginales.

42. Fhloxina



Eritrosina BB, o B extra y rosa nuevo.

CI: 45405

F: $C_{20}\ H_4\ O_5\ Br_4\ Cl_2\ Na$

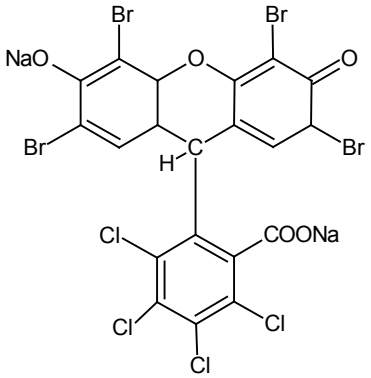
PM: 760.753 uma

Colorante ácido

SOL: Agua 50.9 %, alcohol 9.0 2 %

ABS: 535.7 a 497.1 nm

43. Fhloxina B



Fhloxina TA, N, BP super, RB, TB, y BB, cianocina, eosina 10 B, rojo de Magdala, fhloxina técnica.

CI: 45410

F: $C_{20}\ H_2\ O_5\ Br_4\ Cl_4\ Na_2$

PM: 829.644 uma

Colorante ácido

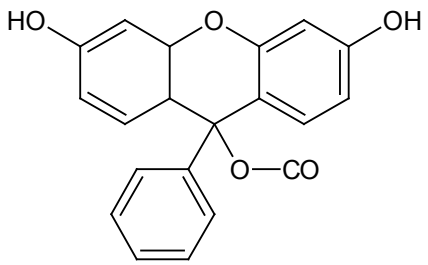
SOL: Agua 10 % y alcohol 5 %

ABS: 546-548 nm

A estos dos colorantes ácidos Fhloxina y Fhloxina B se les ha denominado indistintamente para su uso como Fhloxina o Phloxina B.

Se han usado para teñir procesos de cromólisis, bacterias y cuerpos de Negri. Como fluorocromos, tiñen las fibras elásticas dérmicas. También se usa en la técnica de Gram-Weigert, para bacterias en cortes de tejidos en parafina, para la técnica de Mallory, colorea adecuadamente algas y es un buen sustituto de las eosinas.

44. Fluoresceína



Uranina y eosina madre.

CI: 45350

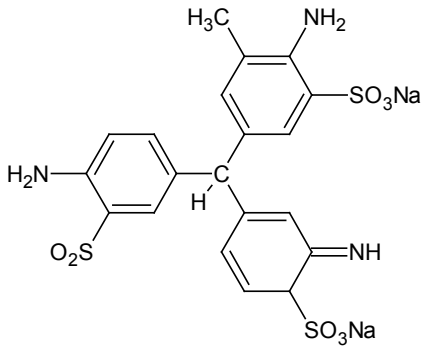
F: $C_{20}\ H_{12}\ O_5$

PM: 332.316 uma

SOL: los miligramos de la sal colorante pueden ser solubles en agua al 4.31 % y en alcohol al 0.35 %.

Es un colorante con muy baja capacidad tintórea, pero provoca una excelente fluorescencia en los tejidos coloreados. Provoca fluorescencia verde-amarillenta, que se incrementa con el estímulo de la luz ultravioleta; también se usa como colorante vital para células vegetales.

45. Fucshina ácida



Fuschina S, SN, SS, ST, S III, magenta ácida, ácido rubínico, rubin S y säurefuchsina.

CI: 42685

F: $C_{20}\ H_{17}\ N_3\ O_9\ S_3\ Na_2$

Colorante ácido

PM: 585.545 uma

ABS: 540-544 nm

SOL: Es muy soluble en agua, en cellosolve 5 % y en glicerol 7 %

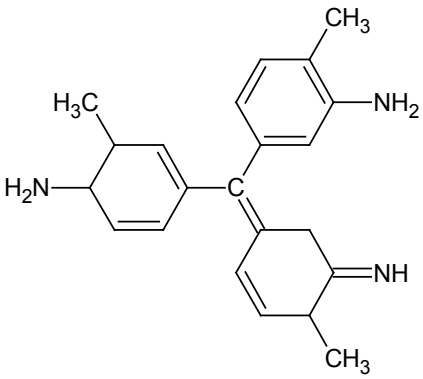
Colorante para tejido conectivo en la técnica tricrómica de Van Gieson. Combinado con ácido pícrico, puede ser usado para contrastar a la mayoría de las hematoxilinas. Se le usa para la técnica de Mallory, en donde se observa de color rojo al núcleo, rosa el citoplasma y en azul el colágeno y las mucinas.

Las técnicas más recomendadas son las siguientes: Mallory, Van Gieson, Llily-Van Gieson, coloración de la colágena de Mallory, tricrómica de Masson, de Pianese, lactofenol y fuschina ácida para hongos en tejido vegetal.

46. Fucshina básica

Este colorante es el resultado de una mezcla de pararosanilina, rosanilina y magenta II. Este compuesto se ha cambiado por la fucsina nueva (CI: 42520), la cual presenta mejores cualidades y permite una tinción más intensa.

47. Fucshina nueva



Magenta III3, isorubina, fucshina NB y magenta nueva.

CI: 42520

F: C_{22} H_{24} N_3 Cl

PM: 365.911 uma

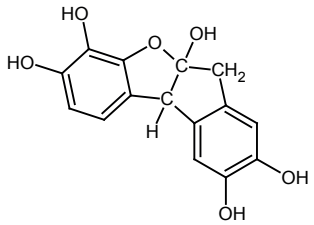
Colorante básico

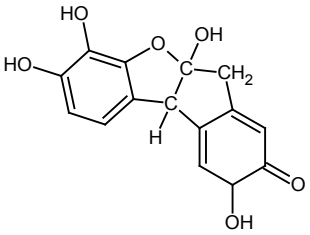
ABS: 556 nm

SOL: Agua 1.13 % y en alcohol 3.20 %

Puede ser usado como colorante nuclear, para evidenciar microorganismos, flagelos, cilios y túbulos de polen. Es el colorante de elección en las fórmulas de carbol-fucsina y para el reactivo de Shiff.

48. Hematoxilina





CI: 75290

F: C_{16} H_{14} O_6 3HO

PM: 356.332 uma

Colorante básico

ABS: 292 nm

SOL: En agua 10%, en etanol con una concentración de 96 %, 10 %. Etanol absoluto entre 5 y 8 %, cellosolve 9.5 % y glicol 10 %.

Este colorante natural de uso ancestral puede evidenciar casi cualquier elemento dentro de la célula, ya sea, agregado de forma natural o como resultado de algún proceso patológico.

Principalmente, tiñe a las proteínas ácidas del núcleo y algunas más del citoplasma. Se puede usar para la localización de una gran cantidad de metales en tejidos.

Tiñe células enterocromafines, queratohialina, tricohialina, elastina, mielina y protozoarios.

Funciona bien como indicador, cambiando de rojo a amarillo, en el rango de 1.2 a 2.6. de pH.

Algunas de las formulaciones y técnicas en las que más se emplea la hematoxilina son:

Técnicas generales:

- Hematoxilina de Anderson
- Hematoxilina de Apathy
- Hematoxilina ácida de Baker
- Hemalumbre de Bennet
- Hematoxilina de Bohmer-Schmorl
- Hematoxilina de Broussy
- Hematoxilina de Bullard

- Hematoxilina de Carazzi
- Hematoxilina de Cole
- Hemalumbre de Debiden
- Hematoxilina de Delafield
- Hematoxilina modificada de Delafield para tejido vegetal
- Hematoxilina de Ehrlich
- Hematoxilina de Faure
- Hematoxilina de Fernandez Galiano
- Hematoxilina para protozoarios en frotis fijados
- Hematoxilina de Fiedländer
- Hemalumbre de Gadsdon
- Hemalumbre de Gages
- Hematoxilina de Garrido
- Hemalumbre de Garvey
- Hemalumbre de Gill
- Hematoxilina férrica de Goldman
- Hematoxilina crómica de Gomori
- Hematoxilina Groat
- Hemalumbre de Groot
- Hemalumbre de Hamilton
- Hematoxilina de Harris
- Hemalumbre de Harris y Power
- Hemalumbre de Haug
- Hematoxilina de Heindenhain

- Hematoxilina progresiva diluida de Heindenhain
- Hematoxilina regresiva diluida de Heindenhain
- Hematoxilina férrica de Held
- Hematoxilina de Herxheimer
- Hematoxilina férrica de Janssen
- Hematoxilina de Johansen
- Hematoxilina férrica de Kefalas
- Hemalumbre de Kleinenberg
- Hematoxilina de Klutschintzky
- Hematoxilina alcohólica de Kofoid y Swezy
- Hematoxilina férrica de Krajian
- Hemalumbre de Krutsay
- Hemalumbre de Langeron
- Hematoxilina de Launoy
- Hemalumbre de Lee
- Hematoxilina férrica de Lillie
- Hematoxilina férrica de Lillie y Earle
- Hematoxilina de Lillie-Mayer
- Hemalumbre de McLachlan
- Hematoxilina acuosa de Mallory
- Hematoxilina fosfomolíbdica de Mallory
- Hematoxilina fosfotúngstica de Mallory
- Hemalumbre de Mann
- Hemalumbre de Masson

- Hematoxilina de Mayer
- Hematoxilina férrica de Morel y Bassal
- Hematoxilina de Pal-Weigert
- Hematoxilina de Papamiltiades
- Hematoxilina férrica de Pequín y Gooddard
- Hemalumbre de Pusey
- Hemalumbre de Rawitz
- Hematoxilina de Regaud
- Hematoxilina férrica de Rozas
- Hematoxilina de Sass
- Hemalumbre de Schmorl
- Hematoxilina de Smith, modificada por Dietrich
- Hematoxilina de Spielmeyer
- Hematoxilina de Thomas
- Hematoxilina de Verhoff
- Hemalumbre de Watson
- Hematoxilina de Weigert
- Hematoxilina al cloruro férrico de Weigert-Lillie
- Hematoxilina litiada de Weigert
- Hematoxilina de Weigert-Lillie
- Hematoxilina de Weil
- Mucihemateina de Mayer
- Trioxihemateina férrica de Hanssen

Técnicas para cortes en parafina:

- Hematoxilina de Anderson
- Hematoxilina de Faure
- Hematoxilina férrica de Goldman
- Hematoxilina férrica de Held
- Hematoxilina férrica de Kefalas
- Hematoxilina férrica de Krajian
- Hematoxilina férrica de Lillie
- Hematoxilina férrica de Lillie y Earle
- Hematoxilina férrica de Morel y Bassal
- Hematoxilina férrica de Paquín y Goddard
- Hematoxilina férrica de Rozas

Protocolos de aplicación para técnicas de histología animal:

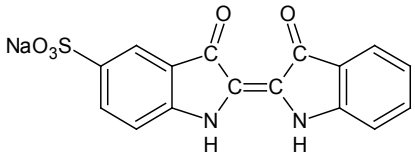
- Coloración de leucocitos con granulaciones eosinófilas de Ehrlich
- Coloración de las estructuras musculares de Heindenhain
- Coloración de mitocondrias por el método de Regaud y Mawas
- Coloración por la hematoxilina de Delafield
- Coloración por la hematoxilina de Ehrlich
- Coloración por el hemalumbre ácido de Mayer, modificada por Lillie
- Coloración por la hematoxilina de Harris
- Coloración por la hematoxilina de Heidenhain
- Coloración por la hematoxilina al cloruro férrico de Wiegert-Lillie
- Coloración con hematoxilina férrica de Weigert, y colorantes metacromáticos
- Coloración por la hematoxilina fosfotúngstica de Mallory

- Coloración por la mucihemateina de Mayer para mucina
- Coloración de la mielina por el método de Verhoff
- Coloración de haces de mielina por método de Pal-Weigert
- Coloración de los haces de mielina por el método de Weil
- Coloración de lipoides por el método de Smith y Mair, modificado por Dietrich

Técnicas para cortes por congelación:

- Coloración por la hematoxilina ácido fosfotúngstica de Mallory
- Coloración para tejidos vegetales, por la hematoxilina férrica premezclada de Weigert
- Cortes en parafina o secciones a mano libre
- Coloración regresiva para tejido vegetal, por la hematoxilina diluida de Heindenhain
- Coloración por la hematoxilina modificada de Delafield para tejidos vegetales
- Coloración regresiva por la hematoxilina de Johansen, para cromosomas y centrosomas, en tejidos meristemáticos
- Coloración por la hematoxilina férrica de protozoarios en frotis fijados de materia fecal o fluidos corporales
- Coloración por la hematoxilina alcohólica de Kofoid y Swezy de protozoarios
- Coloración panóptica por la hematoxilina, escarlata de Biebrich y verde rápido

49. Indigocarmín



Indigotina I y IA.

CI: 73015

F: $C_{16} H_8 N_2 O_8 S_2 Na_2$

PM: 466.358 uma

Colorante ácido

SOL: En agua 1.3 % y ligeramente en alcohol, cellosolve 4 % y glicol 2.85 %

ABS: 608 a 612 nm

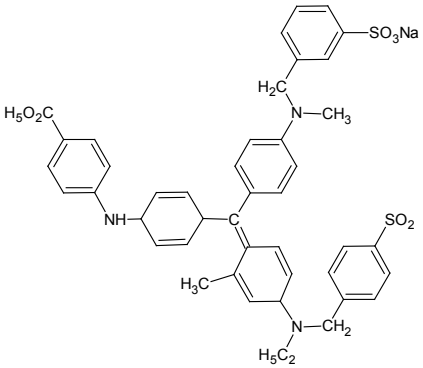
El índigo carmín es un colorante selectivo para teñir la colágena de azul, diferenciándola del músculo y las células de citoplasma más ácido, que pueden tomar color amarillo.

Este colorante citoplasmático, al ser mezclado con fucshina básica, permite demostrar cuerpos de Negri, y al ser mezclado con eosina, se utiliza como colorante de contraste de la hematoxilina y para diagnóstico mediante extensiones de citología exfoliativa y frotis vaginales.

Para la citología de plantas, se usa mezclado con fucsina ácida y ácido pícrico. Se usa para estudiar la excreción glomerular, mediante inyección uretral.

Se puede usar mezclado con ácido pícrico oleoso y tiene propiedades como indicador, cambiando de azul a amarillo en el rango de pH 11.5-13.0 hasta 14.

50. Indocianina brillante G



Azul brillante de Comassie G-250, Comassie brillant blue, cianina, indocianina, cianina brillante, azul brillante G o GN.

CI: 42655

F: C_{47} H_{48} N_3 O_7 S_2 Na

PM: 825.986 uma

ABS: Aproximadamente 280 nm, en solución ácida

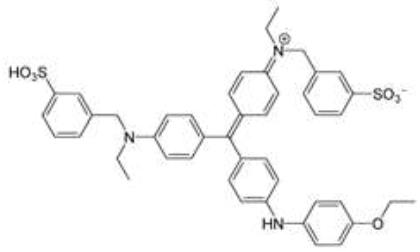
Colorante ácido

SOL: Muy baja solubilidad en agua fría, soluble en agua caliente y moderadamente soluble en solución acuosa de ácido acético al 10 %.

Este colorante y la indocianina brillante 6B pueden ser agregados a geles de poliacrilamida y en la técnica de Bradford sirve para evidenciar la concentración de proteína total; la cantidad de coloración es proporcional a la cantidad de proteínas presentes.

Se puede utilizar como colorante panóptico y en la coloración de cultivos celulares.

51. Indocianina brillante 6B (azul de Coomasie)



Azul brillante de Comassie G-250, Comassie brillant blue, cianina, indocianina, cianina brillante, azul brillante G o GN.

CI: 42660

F: $C_{45}\ H_{44}\ N_3\ O_7\ S_2\ Na$

PM: 825.986 uma

ABS: Aproximadamente 280 nm en solución ácida

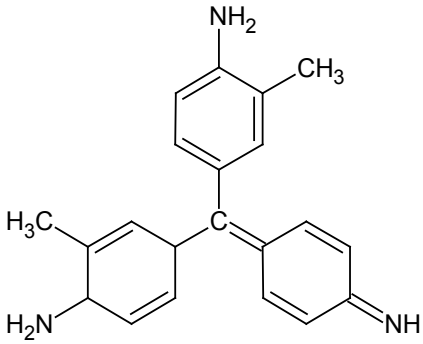
Colorante ácido

SOL: Muy baja solubilidad en agua fría, soluble en agua caliente y moderadamente soluble en solución acuosa de ácido acético al 10 %.

Este colorante y la indocianina brillante G, se usan indistintamente para la coloración de proteínas separadas en geles de poliacrilamida, y también se usa en la técnica de Bradford para concentración de proteínas, la cantidad de coloración es proporcional a la cantidad de proteínas presentes.

Se puede utilizar como colorante panóptico y en la coloración de cultivos celulares.

52. Magenta II



Sin **CI**

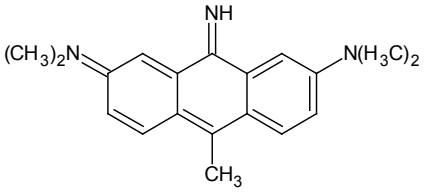
F: $C_{21}\ H_{22}\ N_3\ Cl$

PM: 351.883 uma

ABS: 554 nm

Este compuesto es parte de la fuschina básica, por lo que no se le encuentra en forma pura, excepto si se le prepara en laboratorio.

53. Naranja de acridina



Naranja básica 3 RN, eucrisina 3RXA, naranja de acridina NO, naranja NO rodulina.

CI: 46005

F: $C_{17}\ H_{20}\ N_3\ Cl$

PM: 301.822 uma

Colorante básico

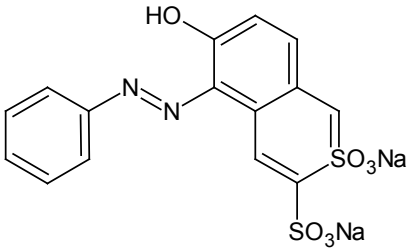
SOL: Muy buena en agua y alcohol

ABS: 497 nm

Este compuesto es un excelente fluorocromo, tiñe la mayoría de los componentes celulares, y tiene una mayor apetencia por los ácidos nucleicos y proteínas ácidas. Permite evidenciar células en apoptosis, por la modificación de su absorbancia al adsorberse al DNA roto contenido en los cuerpos apoptósicos. Como fluorocromo, también permite la tinción selectiva de sulfomucinas.

Sirve también para demostrar la presencia de bacterias en suspensiones contaminadas. Tiñe células tumorales y causa retardo en el crecimiento de células tumorales en cultivo. También es colorante vital de tejidos y ácidos nucleicos.

54. Naranja G



Naranja de lana 2G.

CI: 16230

F: $C_{16}\ H_{10}\ N_2\ O_7\ S_2\ Na_2$

PM: 452.372 uma

Colorante ácido

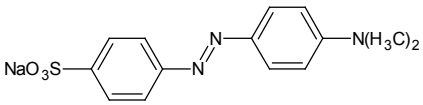
SOL: Agua 8 %, alcohol 0.22 %, cellosolve 1.7 % y glicol 3 %

ABS: 476 a 481 nm

Es un colorante citoplasmático que tiñe fuertemente las estructuras acidofílicas. Es de gran valor como contraste para la mayoría de los colorantes nucleares.

Puede ser usado mezclado con eosinas para el contraste de las hematoxilinas, es empleado en técnicas tricrómicas para el tejido conectivo, forma parte de la técnica de Papanicolau, y permite diferenciar parásitos de vegetales y gránulos del polen.

55. Naranja de metilo



Naranja III 3, heliantina, naranja oro MP y tropeolina D.

CI: 13025

F: $C_{14} H_{14} N_3 O_5 S Na$

PM: 327.340 uma

Colorante ácido

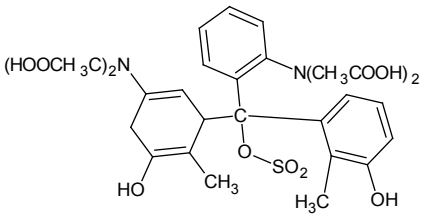
SOL: Agua 0.52 % y alcohol 0.68 %

ABS: 506 a 508 nm

Este colorante es usado para la tinción de plantas y como contraste del cristal violeta para tubos de polen. Sirve como indicador en el rango de pH 3.0-4.4 de rojo a amarillo.

Resiste muy bien la decoloración con los carbonatos y con la mayor parte de los ácidos orgánicos.

56. Naranja de xilenol



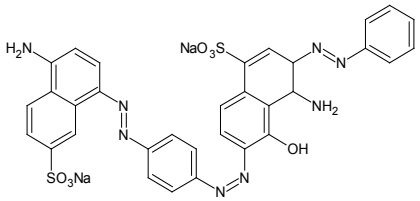
Sin **CI**

F: $C_{29} H_{28} N_2 O_{13} S$

PM: 644.616 uma

Es un fluorocromo que se usa principalmente para marcar de forma parenteral el calcio que se deposita en el hueso, al mismo tiempo de su administración. Contrasta con el amarillo de la tetraciclina, el rojo de la alizarina roja S, el azul de la calceína azul y el verde de DCAF.

57. Negro zambesi V



CI: 30015

F: $C_{32}\ H_{23}\ N_9\ O_7\ S_2\ Na_2$

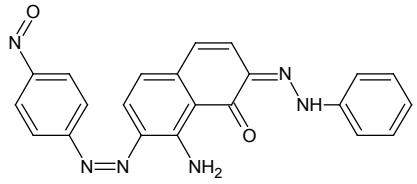
PM: 755.704 uma

Colorante ácido

SOL: Muy soluble en agua, moderadamente soluble en soluciones de ácidos minerales y cellosolve. Insoluble en alcohol.

Aunque es uno de los colorantes directos para teñir algodón, es un colorante pobre para el citoplasma. Genera un color pálido en el músculo y el citoplasma de otras células, proporciona un verde grisáceo a la colágena después de 24 horas de tinción en solución a pH de 9.1. Es altamente selectivo para fibras elásticas con un fondo gris muy claro.

58. Nigrosina soluble en agua y nigrosina soluble en alcohol



F: $C_{22}\ H_{16}\ N_6\ O_3$

Soluble en agua: nigrosina W, W1, gray R. B, BB, silver gray, steel gray e indulina negra

CI: 50420

Soluble en alcohol: Solvente black 7

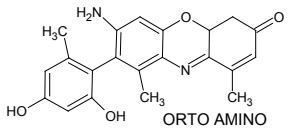
CI: 50415

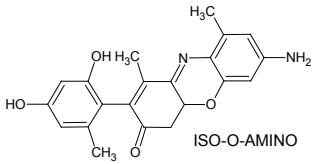
Cualquiera de estos dos colorantes sirve para la demostración de cromosomas en plantas y glándulas salivales de drosophila, tiñen lipofucshinas y otros residuos lipídicos, así como fibras elásticas.

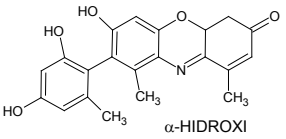
Se puede usar en lugar de tinta china para bacterias, hongos, espiroquetas y esporas.

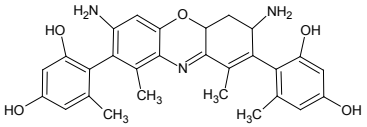
También es un buen contraste para tejido nervioso, y en la tinción selectiva, para colágeno mezclado con ácido pícrico.

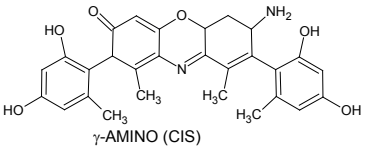
59. Orceína

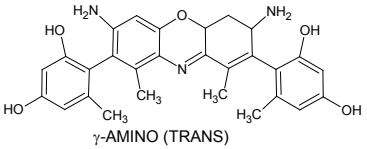


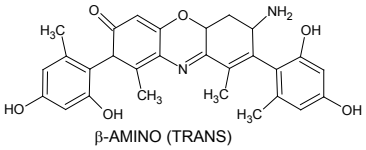












Archill, ochil, orceille, cudbear, púrpura imperial, púrpura francesa, persi y crotte.

CI: 1242

F: $C_{28}\ H_{24}\ N_2\ O_7$

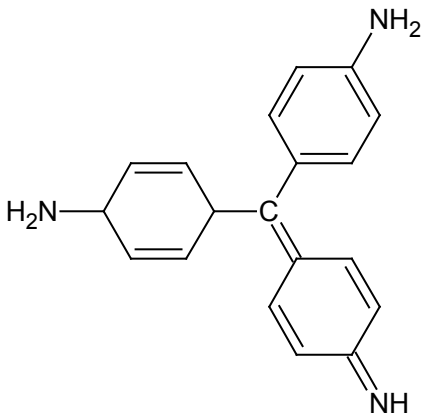
PM: 500.51 uma

ABS: 575 a 582

Este colorante natural proviene del liquen *Roccela tinctoria* o *Lecanora tinctoria*. La orceína sintética tiene doce fracciones, siete de ellas son cristalizables.

Las técnicas más comunes en que se emplea son: Tazzer-Unna y de Darrow para elastina, técnica de Fraenkel con pícrico índigo carmín para elastina y fibras elásticas. También se usa en la técnica de Gay-Kraumann para cromosomas, y en la técnica de orceína lactopropiónica para cromosomas en tubos de polen. Además, se usa la orceína en ácido propiónico para evidenciar cromosomas en estructuras meristemáticas.

60. Pararosanilina



Magenta O.

CI: 42500

F: $C_{19}H_{18}N_3Cl$

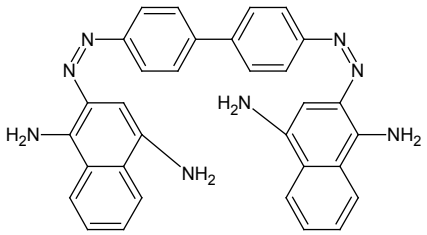
PM: 323.828 uma

ABS: 545 nm

SOL: En agua 0.26 % y en alcohol 5.93 %

Este compuesto es el componente mayoritario de las mezclas de fucshina básica.

61. Pardo de Bismarck



Pardo de Bismarck Y, vesuvin, fenil café, café Manchester, café excelsior, café piel, café básico G, GX o GXP.

CI: 21000

F: $C_{18}H_{20}N_8Cl_2$

PM: 419.320 uma

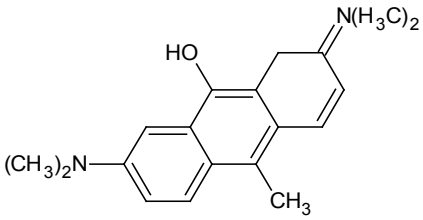
Colorante básico

SOL: Agua 1.36 %, alcohol 3 %, cellosolve 3 %, glicol 7 %, xileno 0.5 %

ABS: 463 nm

Es parte del método de Papanicolau, es un buen colorante vital, tiñe mucinas, la celulosa de la pared celular en vegetales y algunos elementos de las envolturas bacterianas. Se puede usar de forma general para contrastar algunos colorantes nucleares y para las técnicas de Gram, Ljubinsky y para bacterias ácido-resistentes.

62. Pironina B



Pironina By.

CI: 45010

F: C_{21} H_{27} N_2 O C

PM: 358.915 uma

Colorante básico

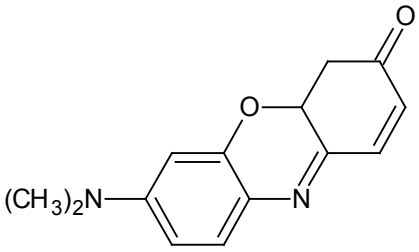
SOL: Agua 10 %, alcohol 0.5 %, cellosolve 4.5 %, glicol 3 %

ABS: 554 a 556 nm

Combinación presentada inicialmente por Pappenheim para colorear elementos basófilos; especialmente en células plasmáticas, permite distinguir el RNA en rojo y DNA en verde.

Tiñe gonococos y mitocondrias, se puede usar como contraste en la técnica de Gram, permite diferenciar Brucelas por sus propiedades bacteriostáticas. En coloraciones panópticas, tiñe los pigmentos biliares, proteínas ácidas y mitocondrias.

63. Resorcina azul



Resorcina azul MLB.

CI: 51020

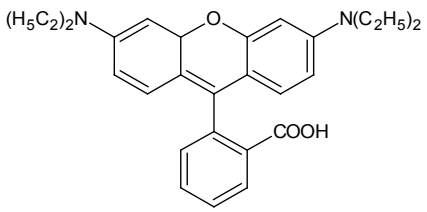
F: C_{14} H_{12} N_2 O_2

PM: 240.264 uma

Colorante ácido

Es un colorante selectivo para fibras elásticas, empleado en la técnica de Taenzer-Unna.

64. Rodamina B



Rodamina O, rosa brillante B.

CI: 45170

F: $C_{28}H_{31}N_2O_3Cl$

PM: 479.024 uma

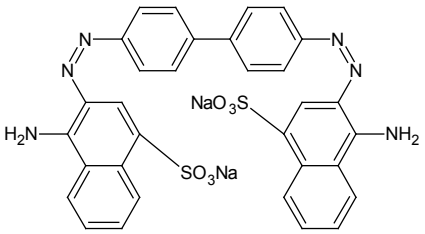
ABS: 556.5 nm

SOL: Agua 0.78 %, alcohol 1.47 %, poco soluble en acetona y muy soluble en cellosolve.

Colorante fluorescente

Proporciona una fluorescencia amarillo-verdosa, en la técnica de auramina-rodamina. Evidencia bacterias resistentes al ácido y al alcohol, particularmente, micobacterias. Puede ser usado como biomarcador, tanto en animales como en vegetales; y también como colorante de seguimiento.

65. Rojo congo



Congo, rojo algodón B o C, rojo directo C, R o Y.

CI: 22120

F: C_{32} H_{22}. N_6 O_6 S_2 Na_2

Colorante ácido

PM: 696.976 uma

SOL: Agua 5 %, alcohol 0.75 %, cellosolve 1.75 %, glicol 2 %. En solución ácida, forma un precipitado azul.

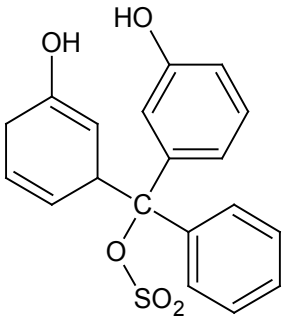
ABS: 497-500 nm

Principalmente usado como indicador de pH para el rango comprendido entre 3.0 y 5.0, y presenta colores de azul a rojo.

Colorante para axones, embriones, mucinas, elastina y en específico para amiloide.

Se puede usar como contraste general para las hematoxilinas. Se puede usar como colorante general para hongos del género *Uromyces* y celulosa. Es útil como colorante negativo para bacterias y espiroquetas, tiñe también, levaduras y protozoarios. Bajo la luz ultravioleta, diferencia algunos tipos de lípidos en vesículas.

66. Rojo de cresol

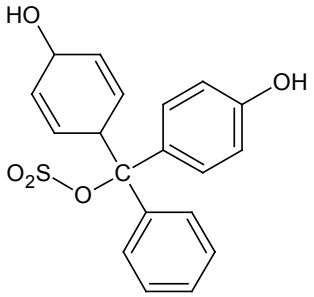


F: C_{21} H_{18} O_5 S

PM: 382.439 uma

Indicador en dos rangos de pH, el primero entre 0.2-1.8, virando de rojo a amarillo y el segundo de 7.1-8.8, virando de amarillo a púrpura.

67. Rojo de fenol



Fenolsulfonftaleína.

Sin **CI**

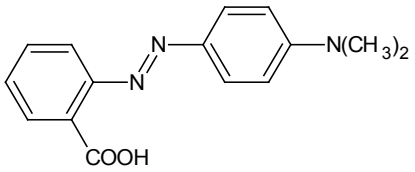
F: $C_{19}H_{14}O_5S$

PM: 354.384 uma

SOL: Agua 0.077 %, alcohol 0.29 %, acetona 0.2 % Casi insoluble en éter sulfúrico o cloroformo.

Es un colorante empleado para tinción funcional hepática y como indicador para medios de cultivo celular. Como indicador, cambia de amarillo a rojo en el rango de pH entre 6.8 y 8.4, por lo que es un indicador muy usado.

68. Rojo de metilo



CI: 13020

F: $C_{15}H_{15}O_2N_3$

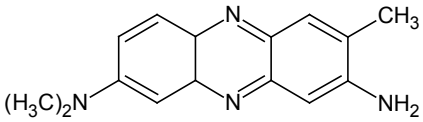
PM: 269.306 uma

SOL: Insoluble en agua y se disuelve moderadamente en alcohol.

ABS: 530 nm

Es un buen colorante vital para protozoarios. Como indicador, cambia de rojo a amarillo en el rango de pH 4.4-6.0.

69. Rojo neutro



Rojo de toluileno.

CI: 50040

F: C_{15} H_{17} Na Cl

PM: 288.78 uma

SOL: Agua 4 %, alcohol 1.8 %, cellosolve 3.75 %, glicol 3 %

ABS: 540 nm

Colorea débilmente el núcleo eucarionte, y colorea parásitos en tejidos en solución colorante neutra. Tiñe el aparato de Golgi la sustancia de Nissl y se usa para embriones en combinación con verde de Janus.

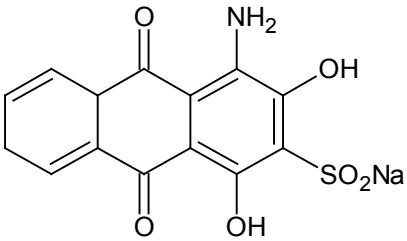
Se puede usar como sustituto del azul de Nilo para demostrar la hidrólisis de las grasas. Es también un fluorocromo para algunas grasas en pH de entre 5.6 y 7.0, las células cebadas presentan fluorescencia roja.

Permite la coloración diferencial para plancton vivo y muerto, en una solución de 1/1 000 000.

Como colorante vital, se usa para protozoarios, núcleo, células sanguíneas, con la técnica supravital con verde Janus y para evidenciar las bacterias en exudado gonorreico.

También se usa como indicador del pH del contenido celular en plantas vivas, en plantas con paredes no lignificadas y en células vegetales, dentro del rango 3 a 6.5.

70. Rojo rápido nuclear o kernechtrot



Helioechtrubin BBL, helio AST, rubin BBL y rojo de calcio.

CI: 60760

F: C_{14} H_8 N O_7 S Na

PM: 357.3 uma

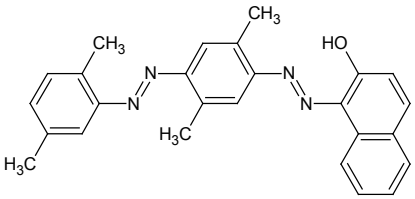
Colorante ácido

ABS: 357.276 nm

SOL: Agua 0.25 %

Colorante nuclear y específico para demostrar el calcio en los tejidos, se usa como contraste nuclear en auto-radiografías para estudiar desarrollo óseo. En pintura de laca, se usa para teñir metales pesados, tintas y papel tapiz.

71. Rojo oleoso o



Sudán rojo 5B, rojo Ceres 5B.

CI: 26125

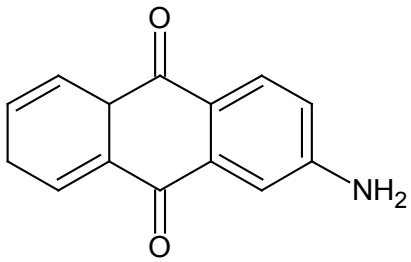
F: C_{26} H_{24} N_4 O

Colorante débilmente ácido

PM: 408.507 uma

Colorante sustituto del Sudán III, en las técnicas de Proescher, rojo oleoso-piridina, en supersaturación en iso-propanol, y en la de Lillie. Colorea los gránulos de neutrófilos.

72. Rojo rápido Al



Rojo de diazo-naftanil AL, rojo rápido sal, rojo AL, ALS, sal 330 microme rojo y 1-aminantraquinona.

CI: 37275

F: $C_{14} H_9 N O_2$, amina

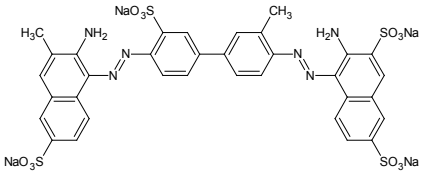
PM: 223.235 uma

SOL: En agua

ABS: 522 nm

Colorante nuclear

73. Rojo tripan



Rojo tripán MLB.

CI: 22850

F: $C_{32} H_{19} N_6 O_{15} S_5 Na_5$

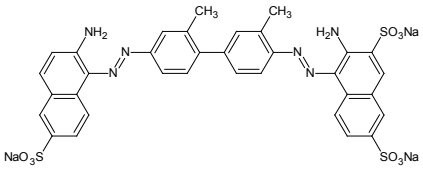
PM: 1002.808 uma

Colorante ácido

SOL: En agua

Colorante vital y colorante directo para algodón.

74. Rojo vital



Diamino purpurina 3B, Congo brillante R, Congo brillante rojo R, Congo ácido R, azidina escarlata R y rojo vital brillante.

CI: 23570

F: $C_{34} H_2 N_6 O_9 S_3 Na_3$

PM: 826.793 uma

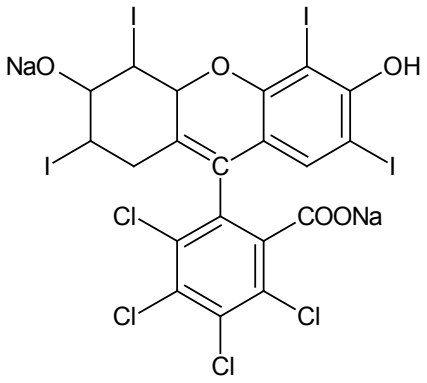
ABS: 498 nm

SOL: Agua, alcohol, cellosolve y glicol.

Colorante ácido

Este compuesto es uno de los colorantes vitales más empleados e importantes y puede ser sustituto del rojo Congo en las tinciones para amiloide.

75. Rosa de Bengala



Rosa de Bengala extra, rosa de Bengala 3B concentrado, rosa de Bengala N extra, DY, B y 2B.

CI: 45440

F: $C_{20}H_{25}Cl_4I_4O_4Na_2$

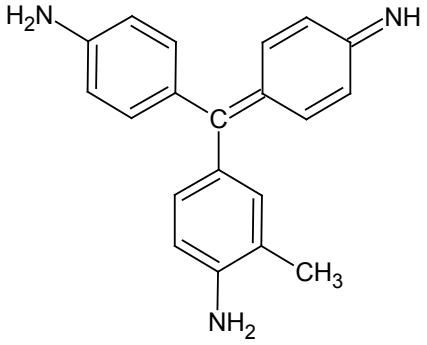
PM: 1017.645 uma

Colorante ácido

Se utiliza como colorante vital diferencial para espermatozoides, bacterias y cultivos bacterianos. También se usa como fluorocromo para evidenciar grasa y tejido adiposo. Tiene efecto bacteriostático y se usa en la tinción negativa de bacterias.

Se puede emplear como coloración de contraste para todas las hematoxilinas y el azul de toluidina.

76. Rosanilina



Magenta I.

CI: 642510

F: $C_{20}H_{20}N_3NaCl$

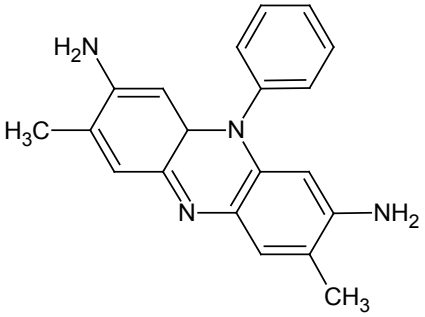
PM: 337.855 uma

ABS: 550 nm

SOL: Agua 0.39 %, alcohol 8.16 %

Este compuesto forma parte de la mezcla que compone a la fucshina básica y no se encuentra por separado de la pararosanilina, a menos que se prepare especialmente en el laboratorio.

77. Safranina



Safranina Y o A, gossipimine, rojo de algodón, safranina AG, T, MP y G.

CI: 50240

F: $C_{20}H_{19}N_4Cl$

Colorante básico

PM: 350.854 uma

SOL: Agua 4.5 %, alcohol 3.5 %, cellosolve 5 %, glicol 3.5 %

ABS: 530-534 nm

Colorante nuclear para citología general, cromatina, carcinomas y células gigantes granulomatosas.

Excelente colorante de contraste para micrografía, tinciones plasmáticas y coloración de vegetales de rutina.

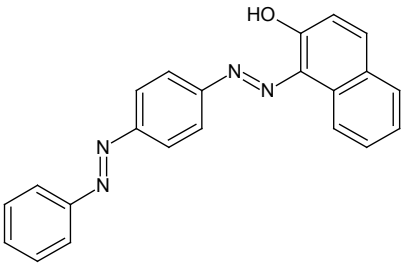
Provoca metacromasia naranja en células cebadas y mucinas metacromáticas.

Se utiliza principalmente en las siguientes técnicas:

- Hematoxilina férrica-safranina para mucinas y cartílago
- Contraste para la reacción de Perls
- Contraste para la tinción de fosfatasa alcalina y cobalto
- Contraste de la hematoxilina férrica para vegetales
- Contraste para hematoxilina de aluminio para plantas
- Tinción general de rutina para vegetales
- Técnica de Darrow, safranina-azul de anilina para tejidos meristemáticos
- Técnica de Johansen, safranina-verde rápido para tejido vegetal
- Técnica de Johansen, safina picro-azul de anilina para madera
- Contraste para hematoxilina férrica aplicada en citología vegetal

- Técnica triple de Flemming
- Safranina-cristal violeta-naranja G, para cromosomas
- Técnica de Rawlin de safranina-picroanilina azul
- Contraste para la modificación de Bartholomew para Gram
- Contraste en la técnica de Wirtz
- Contraste del verde de malaquita para esporas
- Técnica fluorescente de Bartholomew para esporas
- Contraste del cristal violeta para esporas
- Contraste del Sudán negro para la tinción de lípidos bacterianos

78. Sudán III



Sudán, Sudán rojo BK, Sudán G, rojo Tony, escarlata B, rojo oleoso AS, O, B, 3B, rojo cerasin, punzo de grasa G, Sudán de grasa soluble.

CI: 26100

F: $C_{22}H_{16}N_4O$

Colorante ácido débil

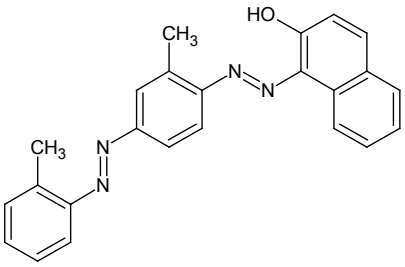
PM: 352.399 uma

SOL: Alcohol 0.19 %

ABS: 508 a 512 nm

Colorante de elección para grasas; en vegetales, sirve para diferenciar tejido del súber y cutina.

79. Sudán IV



Escarlata R, rojo escarlata, rojo oleoso IV, Sudán rojo BB, Ponceau graso R o LB, Ponceau cerotina 3B y Sudanrot BB.

CI: 26105

F: $C_{24}\ H_4\ O\ N_4$

Colorante débilmente ácido

PM: 380.453 uma

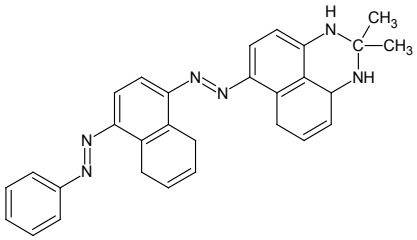
SOL: Alcohol 0.09 %

ABS: 520 a 523 nm

Colorante para grasas en la técnica de Herxhermiers para grasa; dependiendo de su asociación con otros componentes, colorea la grasa en tonos de naranja a rojo, el núcleo azul, los eritrocitos verdes algunas veces, y algunos citoplasmas verde brillante.

También es usado en la técnica de Rawlins para tejidos vegetales.

80. Sudán negro B



CI: 261150

F: $C_{29}\ H_{24}\ N_6$

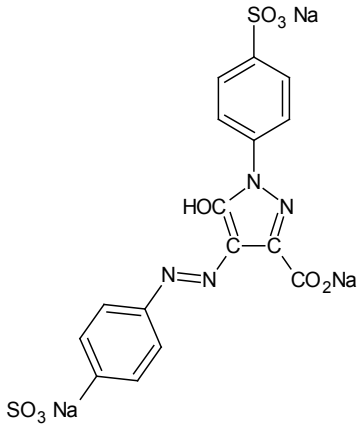
PM: 456.555 uma

ABS: 596 a 605 nm

Colorante general para grasas, tiñe gránulos de leucocitos, cromosomas, elastina, y es una tinción selectiva para retículo y membranas basales, después de la mordentación con ácido fosfotúngstico.

En cortes congelados, sirve para demostrar colesterol libre y fosfatidil colinas. Es una tinción diferencial para la matriz ósea. Se usa en la prueba de Bordon para lípidos bacterianos, y en la técnica de Chiffelle-Putt con propilenglicol.

81. Tartrazina



Tartrazina O, tartrazin, amarillo ácido T, amarillo T con diferentes prefijos comerciales y tartrazina con letras como prefijos o sufijos.

CI: 19140

F: $C_{16}\ H_9\ N_4\ O_9\ S_2\ Na_3$

Colorante ácido

PM: 534.369 uma

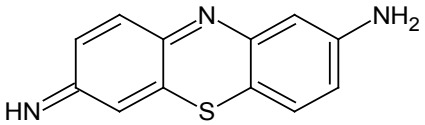
SOL: Agua 6 %, cellosolve 2.5 % y glicol 8 %

Colorante que puede sustituir al naranja G en la técnica del Lendrum, a la ploxina y tartrazina.

Colorea adecuadamente a los cuerpos de inclusión celular de origen infeccioso.

En la técnica de Mallory, tiñe la colágena.

82. Tionina



Violeta de Lauths.

CI: 52000

F: $C_{12} H_{10} N_3 S Cl$

Colorante básico

PM: 263.751 uma

SOL: En alcohol y agua, dependiendo de la temperatura, entre 0.25 a 1.0 %. Soluble en cellosolve y glicol.

ABS: 628 a 632 nm

Este colorante es usado principalmente por sus propiedades metacromáticas. Es muy valioso por su coloración de cromatina, mucinas, y su capacidad como coloración vital para células animales y para células vegetales, con paredes no lignificadas.

Tiñe muy bien los tejidos de insectos.

Inicialmente, fue usado por Erlich, ya que el amiloide se tiñe de azul, mientras que las células cebadas y mucinas se colorean de rojo.

Se puede agregar a los medios de cultivo para diferenciar Brucelas.

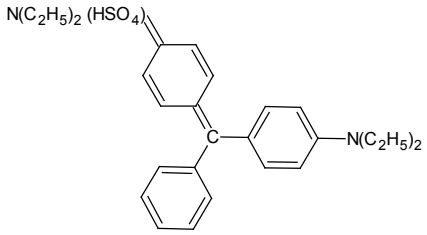
Es un colorante de elección para tejidos neoplásicos cortados en congelación.

Las siguientes técnicas son algunas de las más recomendadas:

- Técnica de Donovick para metacromasia en secciones por congelación de cerebro
- Mallory para secciones congeladas
- Para gránulos de Nissl
- Schmorl de carbol-tionina para matriz ósea
- Para cortes temporales de vegetales hechos a mano

- Tinción general para la observación de patologías en vegetales
- Técnica de Coon, tionina-naranja G para observar hongos en tejidos vegetales
- Técnica de Dienes para coloración por fijación en agar para micoplasmas

83. Verde brillante



Verde de malaquita G, verde de etilo, cristales de verde esmeralda, verde sólido JJO y verde diamante G.

CI: 42040

F: $C_7 H_{33} N_2 SO_4$

PM: 482.647 uma

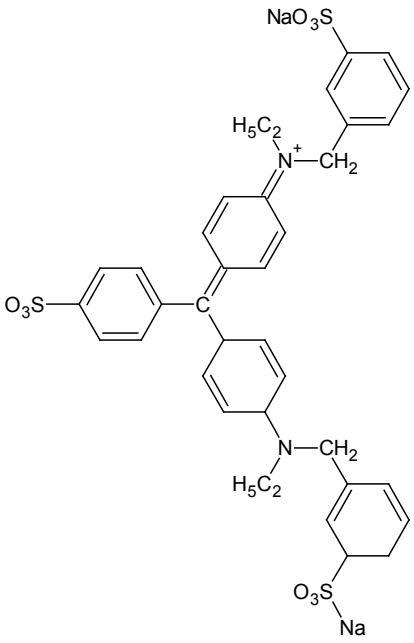
Colorante básico

ABS: 620 a 670 nm

SOL: Es soluble en agua y muy soluble en alcohol.

Este colorante se ha usado para teñir microorganismos y como colorante diferencial en medios de cultivo bacterianos, evidenciando las esporas. Sirve como indicador en el rango de pH entre 0.0-2.6.

84. Verde claro SF



Verde claro, verdes ácido L extra, verde ácido F, verde claro SF amarillento, verde claro 2G, 2GN, S; verde G, SF y verde lisamina SF.

CI: 42095

F: $C_{37}\ H_{34}\ N_2\ O_9\ S_3\ Na_2$

Colorante ácido

PM: 792.863 uma

SOL: En agua 20.35 %, alcohol 4 %, cellosolve 5.25 % y glicerol 12 %

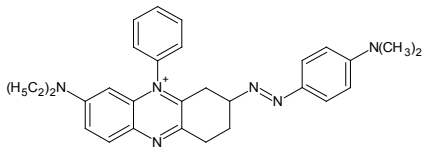
ABS: 629 a 624 nm

Colorante citoplasmático de uso general, se puede usar como contraste para cualquier hematoxilina, safranina y otros colorantes nucleares.

Junto con la fucshina ácida, colorea tubos de polen, citoplasma y celulosa.

Forma parte de los colorantes de la técnica de Papanicolau; se usa como contraste en técnica de Grocott para hongos y en la de Fuelgen para nucleolo en plantas.

85. Verde Janus B



Verde diazina S, verde unión B.

CI: 11050

F: C_{30} H_{31} N_6 Cl

PM: 511.808 uma

ABS: 610 a 623 nm

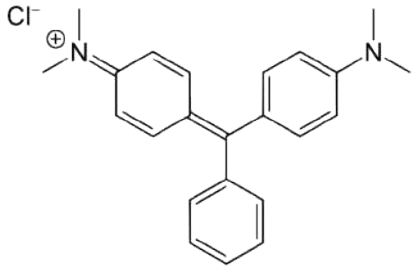
Colorante básico

Se ha empleado para la demostración de mitocondrias, como colorante vital y supravital para sangre.

También se emplea en la tinción de embriones en bloque o sus secciones, en adición de rojo neutro.

Se utiliza en la coloración vital de hongos y protozoarios, y en la modificación de Lilie a la técnica de Ziehl-Neelsen.

86. Verde de malaquita oxalato



Verde de malaquita A, B, BX, 4B, J3E, J3ES, NB, NH, NI, BXN, verde Victoria B, WB, verde sólido O, verde claro N, NW, verde victoria nueva extra, O, I, II; verde diamond B, BX, y verde P extra.

CI: 42000

F: C_{23} H_{25} N Cl

PM: 927.02 uma

Colorante básico

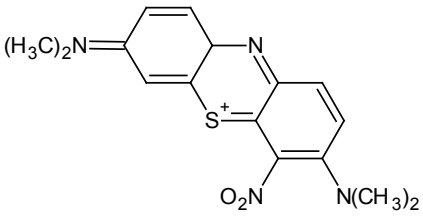
SOL: Agua 1.5 %, alcohol 0.1 %, cellosolve 5.15 %, glicol 8.5 % y xileno 0.3 %

ABS: 607 nm

Aparte de su uso como colorante es uno de los desparasitantes de elección en contra de protozoarios en acuarios.

Es una excelente combinación con eosina, colorante vital para insectos, tiñe células cebadas y produce metacromasia en mastocitos.

87. Verde de metileno



Verde básico 5.

CI: 42590

F: C_{16} H_{17} N_4 O_2 S

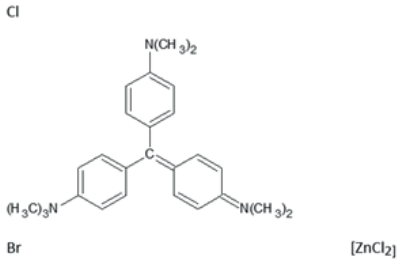
PM: 329.367 uma

SOL: Agua 8 %, alcohol 3 %, cellosolve 1.8 % y glicol 3.5 %

ABS: 530 a 635 nm

Se usa como contraste en la técnica de Altmann y en la de fucshina de anilina para mitocondrias después de la fijación. Es buen contraste para el pardo de Bismarck y colorea los gránulos de cromatina de forma diferencial.

88. Verde de metilo



Doble verde SF y verde claro.

CI: 52020

F: C_{27} H_{35} Br Cl $N_3 \cdot Zn$ Cl_2

Colorante básico

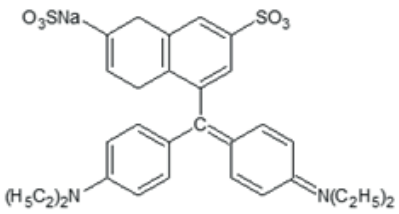
PM: 653.24 uma

SOL: Agua, alcohol y cloroformo

Colorante nuclear, y también se puede usar como contraste en técnicas para teñir tejido conectivo; es buen indicador ácido base de azul-verde a púrpura en el rango de 3 a 11 de pH.

En la técnica de Pappenheim de 1899 verde de metilo-pironina, se usa para identificar ADN y ARN.

89. Verde de naftanilo (verde rápido de álcali)



Verde erio rápido de álcali, verde Lissamina V, verde Pontacyl NV, verde erio B y (30 nombres de marca).

CI: 44025

F: $C_{31}\ H_{33}\ N_2\ O_6\ Na\ S_2$

PM: 560.628 uma

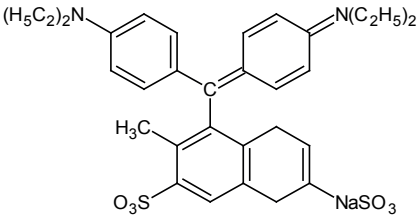
SOL: Agua 4 % y alcohol 9 %

ABS: 622 a 626 nm

Se puede usar para modificar la técnica de Masson y Van Gieson y es buen indicador.

Es un buen colorante para contraste citológico y colágena. Industrialmente, tiñe lana, seda, piel y nylon.

90. Verde rápido FCF



Verde E 143, Food green 3; verde 1724.

CI: 42053

F: $C_{37}\ H_{34}\ O_{10}\ N_2\ S_3\ Na_2$

PM: 808.863 uma

Colorante ácido

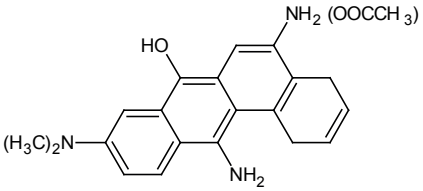
SOL: Agua 16.04 y alcohol 0.35

ABS: 625 nm

Es un colorante de uso general para tejidos animales y vegetales. Sustituye al verde SF amarillento. Como indicador, es naranja con HCl y azul oscuro en NaOH.

Se aplica en diferentes técnicas: cuádruple de Johansen, tinción de bacteria de Maneval, en la modificación de Lilie a la técnica tricrómica de Masson, y como contraste para embriones teñidos en bloque.

91. Violeta de Cresilo



Cresil violeta acetato y cresil violeta rápido.

F: $C_{18} H_{15} N_3 O_3$

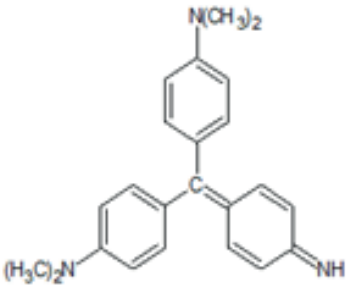
PM: 321.331 uma

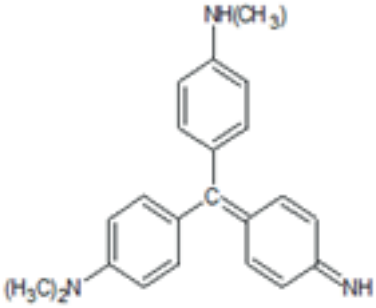
SOL: Agua

ABS: 605 nm

Tiñe preparaciones permanentes de neoplasias adecuadamente; se usa en la tinción en bloque de tejido nervioso, cromosomas de insectos y sustancia de Nissl.

92. Violeta de metilo





Dalia B, violeta de París, pyoktaninum coeruuleum, violeta de genciana, tetra-, penta-,
y hexametil-pararosanilina.

CI: 42535

F: $C_{22} H_{26} N_3 Cl$

PM: 379.937 uma

SOL: Muy soluble en alcohol, soluble en agua y precipita con hidróxido de sodio.

Colorante general para la tinción de bacterias. El compuesto hexametilado es el cristal violeta, el cual es el mejor del grupo.

Fuentes consultadas Capítulo 10:

- Conn, H. J. & Darow, M.A. (Eds.). (1943-1944). *Staning procedures used by the Biological Stain Commission; Biotech Publications*. New York: Geneva.
- Gabe, M. (1976). *Histopatological technics*. Masson/Springer-Verlag.
- Garrido, F. G. (2005). *Manual para aplicaciones de hematoxilina en ciencias biológicas*. México: FES-Cuautitlán, UNAM.
- Grifiths, J. (1976). *Color and constitution of organic molecules*. GB: Academic Press.
- Kiernan, J. A. (1981). *Histological and histochemical methods*. Reino Unido: Pergamon Press.
- Lillie, R. D. & Fulmer, H. M. (1976). *Histopatologic technique and practical histochemistry* (4.ª ed.). New York: Mc Graw Hill.
- Lillie, R. D. & Conn, H. J. (1973). *Biological stains*. (9.ª ed.). EUA.: Williams & Wilkins.
- Ramón y Cajal, S. & Tello, M. J. F. (1948). *Elementos de histología normal y de técnica micrográfica*. México: Editorial Nacional.
- Society of dyers and colourists (SDC). (1971). *The color index* (3.ª ed.). Bradford: The society of dyers and colourists.

Conclusión

Colorantes para laboratorios de ciencias básicas reúne los eventos más importantes el estudio de la luz, relacionados con el color y los colorantes, así como las propiedades más importantes de los reactivos colorantes que son usados con más frecuencia por los profesionales de las ciencias biológicas.

Una de sus principales metas es ayudar durante el trabajo diario de quien necesita elegir la mejor opción para hacer evidente su objeto de estudio. De esta forma, al enfrentarse al acervo con reactivos muy antiguos (con diferentes nombres o etiquetas en otras lenguas), se podrá tener la seguridad de haber aplicado la técnica de tinción más apropiada y con el colorante correcto.

Este libro no es un compendio de todos los colorantes ni pretende ser una solución final o única, su estructura se ha pensado para acercar de forma amable, al alumno principiante, o al técnico especialista, al conocimiento, respaldado por un gran cúmulo de conocimientos teórico-prácticos, a lo largo de la historia de la histología y microtecnia.

Agradecimientos

Los autores agradecemos al señor Edmundo López Sierra por las imágenes 3, 4, 7, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 21 y 23, que fueron realizadas para este libro.

También expresamos nuestro reconocimiento a todos los profesionales que hacen posible la realización de este libro, particularmente, a la Universidad Nacional Autónoma de México por promover la difusión y la extensión del conocimiento.

Referencias

- Aristóteles. (1978). *De anima* (Introducción, traducción y notas de Tomás Calvo Martínez). Madrid: Ed. Gredos.
- Azcárraga, R., Jaques R. & Quintana S. (1996). *Manual de prácticas de anatomía y organografía vegetal*. México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Bancroft, J. D., Stevens, A. & Turner, D. (1990). *Theory and practice of histological techniques*. RU: Churchill- Livingston.
- Battista, L. (1998). *Tratado de pintura*. Primera edición en México. Traducción al español por Carlos Pérez Infante, a partir de la versión inglesa de John R. Spencer. México: UAM.
- Biological satin commission. *A brief history*. Recuperado de www.shef.ac.uk/uni/projects/bsc/briefhis.html. 18/04/1997. (Consultado el 18 de mayo de 2019).
- Brewster, R. & Mc Ewen W. (1968). *Organic chemistry a brief course*. (2.ª ed.). EUA: Prentice-Hall.
- Chevreul, M. E. (1839). *De la loi du contraste simultané des couleurs et de l'assortiment des object colorés*. Francia.
- Conn, H. J. & Darow, M.A. (Eds.). (1943-1944). *Staning procedures used by the Biological Stain Commission; Biotech Publications*. New York: Geneva.
- Da Vinci, L. (1827). *El tratado de la pintura* (Traducción de Diego Antonio Rejón de Silva). España: Imprenta Real.
- Di Fiore, G. (1986). *Curso autodidáctico de dibujo y pintura*. México: Promexa.
- Dupey, E. (2016). El color en los códices prehispánicos del México Central: identificación material, cualidad plástica y valor estético. *Revista Española de Antropología Americana*, 45 (1): 149-166.

- Estrada, F. Peralta, Z. & Rivas M. (1982). *Manual de técnicas histológicas*. México: AGT Editor, S. A.
- Fawcett, D. W. (1986). *Tratado de Histología* (11.ª ed.). México: Interamericana-McGraw-Hill.
- Field, G. (1817). *Chromatics, of the Analogy, Harmony and Philosophy of Colours*. Londres: Ed. A.J. Valpi.
- Finlay, B. J. & Esteban, G. F. (2001). Exploring Leeuwenhoek's legacy: the abundance and diversity of protozoa. *International Microbiology*, 4: 125-133.
- Foster, V. (1991). *The botany laboratory*. (3.ª ed.) EUA: Hunter Textbooks Inc.
- Gabe, M. (1976). *Histopatological technics*. Masson/Springer-Verlag.
- Garrido, F. G. (1997). La cochinilla del nopal. *Comunidad, F.E.S. Cuautitlán*. Quinta época, vol. 12, (13).
- Garrido, F. G. (1997a). Los colores de la madera. *Comunidad, F.E.S. Cuautitlán*. Quinta época, Vol. 12, (16).
- Garrido, F. G. (1998). *Apuntes para el curso "Procedimientos básicos de histología"*. México: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Garrido, F. G. (1998a). Colores para descubrir la vida. *Comunidad, F.E.S. Cuautitlán*. Sexta época Vol. 13, (6).
- Garrido, F. G. (2002). Mecanismos físico-químicos de la impregnación argéntica sobre tejidos animales. *Revista FES-C de divulgación científica multidisciplinaria*. Año 2, (6), octubre-diciembre.
- Garrido, F. G. (2005). *Manual para aplicaciones de hematoxilina en ciencias biológicas*. México: FES-Cuautitlán, UNAM.
- Garrido-Fariña G. I., Rodríguez-Salazar L. M., Oliver González R. M., García Tovar C. G. & Soto Zarate C. I. (2019). *Histología y microtecnia, la frontera entre en un laboratorio de ciencia y un taller de arte*. Conferencia LASERA. 1-4 de octubre, Guanajuato, Gto., México.

- Gaviño, G. T., Juárez, L. C. & Figueroa, T. (1975). *Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo*. México: Limusa.
- Geldard, F. A. (1968). *Fundamentos de psicología*. México: Trillas.
- Grifiths, J. (1976). *Color and constitution of organic molecules*. GB: Academic Press.
- Goethe, J. W. (1810). *Zur Farbenlehre*. Tübingen: J.G. Cotta'schen Buchhandlung.
- Ham, A. W. & Cormack, D. H. (1983). *Tratado de histología* (8.ª ed.). México: Interamericana.
- Herbs, W. & Hunger, K. (1993). *Industrial organic pigments*. Alemania: VCH.
- Ingram, N. T., Sampath, A. P., & Fain, G. L. (2016). Why are rods more sensitive than cones? *The journal of physiology*, 594(19), 5415–5426.
- Jiménez, J. & Macarulla, J. (1981). *Fisicoquímica fisiológica*. (5.ª ed.). México: Interamericana.
- Junqueira, L. C. & Carneiro, J. (1991). *Histología básica*. México: Salvat.
- Karp, G. (1981). *Biología Celular*. (2.ª ed.). México: Mc Graw-Hill.
- Kiernan, J. A. (1981). *Histological and histochemical methods*. Reino Unido: Pergamon Press.
- Laboratorio Central Veterinario. (1973). *Manual de técnicas de parasitología veterinaria*. España: Acribia.
- Lakshminarayanan, V. (2019). Maxwell, color vision, and the color triangle. *Proceedings 11099*. Recuperado de https://www.spiedigitallibrary.org/conference-proceedings-of-spie/11099/2529364/Maxwell-color-vision-and-the-color-triangle/10.1117/12.2529364.short
- Lillie, R. D. & Fulmer, H. M. (1976). *Histopatologic technique and practical histochemistry* (4.ª ed.). New York: Mc Graw Hill.
- Lillie, R. D. & Conn, H. J. (1973). *Biological stains*. (9.ª ed.). EUA.: Williams & Wilkins.

- Luna, L .G. (Ed.). (1968). *Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology* (3.ª ed.). New York.
- Maxwell, J. C. (1855). Experiments on colour as perceived by the eye with remarks on colour blindness. *Transactions of the Royal Society of Edinburgh*, *XX*, pp.275-298.
- Mc Manus, J. F. A. & Mowry, R.W. (1960). *Staining methods*. Japón: Hoeber International reprint/Harper & Row/John Weatherhill.
- Mc Phedran, R. C. & Parker A. R. (2015). Biomimetics: Lessons on optics from nature's school. *Physics Today* vol. 68, (6), pp. 32-37.
- Moyer, S. L. (1992). *El gran libro de la pintura sobre seda*. España: Parramón Ediciones.
- Münsell, A. H. (1906). *Atlas of the Münsell color system*. Wadsworth, Howland & Co. inc.
- Musumeci, G. (2014). Past, present and future: overview on histology and histopathology. *Journal of histology and histopathology* 1, (1).
- Naifeh, J., & Kaufman, E. J. (2020). Color Vision. *Stat Pearls*. Stat Pearls Publishing.
- Nemcsics, A. & Caivano, J. (2015). *Color Order Systems*. Recuperado de researchgate.net/publication/318649153_Color_Order_Systems
- Newton, Isaac. *Opticks: or, A treatise of the reflections, refractions, inflexions and colours of light*. Walford, London: Printed for Sam. Smith, and Benj. Consultado de https://doi.org/10.5479/sil.302475.39088000644674.
- Ochoterena, I. (1945). *Tratado Elemental de Histología General y de organografía microscópica*. (2.ª ed.) México: Ediciones Botas.
- Parramón, M. J. (1980). *Así se pinta al óleo*. España: Instituto Parramón Ediciones, S.A.
- Patiño, C. J. (1986). *Microtecnia vegetal*. México: Editorial Trillas.
- Pontón, Z. R. (1997). *Colorantes milenarios en el arte indígena*. México: Fundación Cultural Serfin.

- Ramón y Cajal, S. & Tello, M. J. F. (1948). *Elementos de histología normal y de técnica micrográfica*. México: Editorial Nacional.
- Ribe, N. & Steinle, F. (2002). Exploratory Experimentation: Goethe, Land, and Color Theory. *Physics Today* vol. 55, (7), pp. 43-49.
- Runge Ph. O. & Farben-Kugel. (1810). *Construction des verhältnisses aller mischungen der farben zu einander, und ihrer vollständigen affinität*. Hamburg.
- Salvat Editores. (1990). *Diccionario terminológico de ciencias médicas* (2.ª ed.). España: Salvat.
- Smith, R. (1999). *El manual del artista*. España: Tursen- Hermann Blume S. A.
- Sisson, S., Grossman, J. D. & Getty R. (1982). *Anatomía de los Animales domésticos* (5.ª ed.). México: Salvat.
- Society of dyers and colourists (SDC). (1971). *The color index* (3.ª ed.). Bradford: The society of dyers and colourists.
- Testut, L. & Latarjet, A. (1960). *Tratado de anatomía humana*; Tomos I-IV; (9.ª ed.). España: Salvat Editores.
- Veuthey, T., Herrera, G. & Dodero V. I. (2014). *Dyes and stains: From molecular structure to histological application. Frontiers in Bioscience*, 19, (1), pp. 91-112.
- Venkataraman, K. (1952-1978). *The chemistry of synthetic dyes*. EUA: Academic Press.
- Volcy, C. (2007). Historia de los conceptos de causa y enfermedad: paralelismo entre la Medicina y la Fitopatología. *Iatreia*, 20(4).
- Von Helmholtz, H. (1967). *Handbuch der physiologischen optik*. Leipzig: Leopold Voss.
- Wallington, E. A. (1976). *Métodos Histológicos para hueso*. México: Manual Moderno. Web Path. Histotechniques. Recuperado de www.medlib.med.utha.edu/WebPath/HISTHTML/.

- Westfall, R. S. (1962). The Development of Newton's Theory of Color. *Isis, 53*, (3), pp. 339-358. Recuperado de www.jstor.org/stable/227786.
- White, A., Hendler, P., Smith, E., Hill, R. & Lehman, R. (1983). *Principios de bioquímica*. (6.ª ed.). México: Mc Graw Hill.
- Zagoya, D. J. C. & Hicks G. J. J. (1988). *Bioquímica e inmunología*. México: Editorial Piensa.

UNAM
CUAUTITLÁN

Colorantes para laboratorios de ciencias básicas

Este texto introduce al lector en el conocimiento de los colorantes más utilizados en los laboratorios de ciencias básicas, citando el nombre origen, la química de los compuestos, fórmulas, sinónimos y las metodologías más empleadas para su aplicación en los tejidos orgánicos, para su observación y estudio.

Pone en contexto a la histología como la ciencia que explora y explica la morfología microscópica y que, apoyada en la microtecnia, permite la observación de la maravillosa variedad que se esconde en cualquier ser vivo y en sus componentes más finos. Resalta la trascendencia de esta mancuerna (ciencia-técnica), que ha producido algunos de los descubrimientos más importantes, principalmente en biología y medicina.

colección: manuales de ciencias biológicas, químicas y de la salud